

Санкт-Петербургский Государственный университет

Биологический факультет

Кафедра зоологии беспозвоночных

Лебеденков Владимир Владиславович

**Особенности организации спорцисты *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835
(Brachylaimoidea: Leucochloridiidae)**

Выпускная квалификационная работа бакалавра

Работа выполнена на кафедре
зоологии беспозвоночных СПбГУ

Научный руководитель:
заведующий кафедрой, профессор,
д.б.н., А. И. Гранович

Санкт-Петербург

2018

Оглавление:

Введение.....	3
Глава 1. Обзор литературы.....	5
Глава 2. Материалы и методы.....	18
Глава 3. Результаты.....	20
Глава 4. Обсуждение.....	44
Краткие результаты и выводы.....	49
Благодарности.....	49
Список литературы.....	50

Введение

Трематоды, или дигенетические сосальщики (Digenea Carus, 1863) — крупная группа паразитических червей, входящая в состав таксона Neodermata Ehlers, 1985. Они характеризуются наличием сложного жизненного цикла, в котором чередуются несколько поколений — обычно, несколько партеногенетических и одним гермафродитным. Первое партеногенетическое поколение развивается с метаморфозом: свободноживущая личинка мирацидий, проникнув в моллюска, превращается в материнскую спороцисту. Последняя отрождает представителей второго партеногенетического поколения, к которым относятся дочерние спороцисты и рении. И, наконец, гермафродитное поколение также развивается с метаморфозом, который включает последовательную смену трех стадий — церкарий, метацеркарий или адолескарий и, собственно, половозрелых особей — марит.

Определённый интерес представляет морфотип «спороцисты». Последние, достигнув стадии генеративной зрелости, представляют собой той или иной формы мешковидное тело с тонкой стенкой, ограничивающий обширную зародышевую полость. В ней, как правило, располагаются многочисленные эмбрионы особей следующего поколения. Кроме того, спороцисты отличаются от всех других морфотипов, составляющих сложный биологический феномен — жизненный цикл Trematoda — полным отсутствием пищеварительного тракта. Последний не закладывается даже в их онтогенезе (Добровольский и др. 1983).

Несмотря на кажущуюся простоту, спороцисты, тем не менее характеризуются удивительным морфологическим разнообразием. У разных дигеней существует множество вариантов организации этого партеногенетического поколения. Однако исследователи всегда уделяли мало внимания спороцистам и партеногенетическим поколениям в целом. Это привело к тому, что на сегодняшний день данная стадия жизненного цикла изучена достаточно слабо, зачастую даже для широко известных объектов. К таким объектам относится, например, *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835 (надсем. Brachylaimoidea).

Упомянутый выше таксон характеризуется рядом биологических и морфологических особенностей, которые отсутствуют у большинства других сосальщиков. Во-первых, подавляющее большинство брахиламоидей, за исключением форм, относящихся к сем. Leucochloridiomorphidae, реализуют свой жизненный цикл на суше. В связи с этим, у них наблюдается упрощение и самого цикла развития, и сокращение путей циркуляции паразитов в природе. Так у представителей рода *Leucochloridium* фактически полностью

выпадает фаза церкарии, а образовавшиеся из эмбрионов метацеркарии локализуются не просто в том же хозяине, но и в породившей их спороцисте.

Во-вторых, зрелые спороцисты брахиламоидей, как правило, обильно ветвятся, т. е. относятся к числу организмов, обладающих модульным типом строения. По отношению к спороцистам это подразумевает наличие в отдельных ветвях центров пролиферации генеративных клеток, т. е. герминальных масс. В тех случаях (pp *Leucochloridiomorpha*, *Brachilaimus*), когда церкарии покидают спороцисту, полимеризации подвергаются и родильные поры.

Именно так обычно и трактуется сложные ветвящиеся спороцисты р. *Leucochloridium* (Атаев и др., 2013). Однако в литературе изредка встречаются и другие толкования. Исследователи обратили внимание на то, что в спороцисте лейкохлоридиумов выделяются достаточно четко обособленные отделы, которые в строгом смысле слова модулями не являются — каждый из них характеризуется своей собственной морфологией и выполняет присущие только этому отделу функции (Галактионов и др., 2014). В этом случае можно говорить о замене вторично возникшей модульной организации спороцист на унитарную, или хотя бы на «третичное» появление элементов унитарности.

Таким образом, две основных причины побудили нас остановить свой выбор на спороцистах вида *Leucochloridium paradoxum*. Во-первых, исследование партенит этого вида даёт дополнительные возможности для проведения сравнительно-морфологического анализа трематод семейства Brachylaimoidea. Во-вторых, сама по себе спороциста этого вида интересна и, на наш взгляд, требует серьезного изучения. Существующие на данный момент работы касаются, в основном, внешней морфологии спороцист (Атаев, Токмакова, 2015). Более подробные исследования встречаются редко (см., напр., Начева и др., 1981).

Все сказанное выше и предопределило **цель** нашего исследования:

Описать строение спороцисты *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835 на гистологическом уровне.

В ходе выполнения этой работы мы постарались решить следующие задачи:

1. Составить общий план строения спороцисты и установить границы участков, которые четко отличаются по своей морфологии и функциям;
2. Описать гистологическое строение стенки тела в разных участках;

3. Сравнить полученные данные с данными по другим представителям близкородственных групп.

Глава 1. Обзор литературы

Партеногенетические поколения трематод

Жизненный цикл трематод можно разделить на две основные составляющие:

- 1) Гермафродитное поколение, к которому относятся стадии церкарии, метацеркарии, мезоцеркарии, адолескарии и мариты (Галактионов, Добровольский, 1998).
- 2) Партеногенетические поколения, которых обычно выделяют 2; к первому относятся стадии мирацидия и материнской спороцисты, второе же включает в себя дочерние спороцисты или редии (Галактионов, Добровольский, 1998).

Материнская спороциста формируется в результате регрессивного метаморфоза мирацидия, который осуществляется после проникновения последнего в тело первого промежуточного хозяина. В некоторых таксонах трематод (т. н. «живородящие трематоды») эта стадия полностью исчезает. Педогенетический мирацидий уже несет в себе практически полностью сформировавшуюся особь дочернего партеногенетического поколения (материнская редия), которая инокулируется в хозяина (Добровольский и др., 1983, Галактионов и др., 2014).

Обычные же личинки после проникновения в моллюска теряют эпителиальные пластинки, расходуют секрет желёз, часть органов при этом редуцируется и т. д. Особенно сильные изменения происходят с покровами (Добровольский и др., 1983).

Покровы мирацидия представлены эпителиальными пластинками и разделяющими их гиподермальными валиками, а также кольцевыми и продольными мышцами. Последние представляют собой отростки будущих клеток тегумента спороцисты, которые выходят на поверхность тела личинки. Эпителиальные пластинки – это сильно уплощённые, несущие реснички эпителиальные клетки. Их количество и особенности строения варьируют в зависимости от стратегии мирацидиев, которых можно разделить на две группы (Добровольский и др., 1983). К первой группе относятся мирацидии, активно заражающие своего хозяина. Они обладают крупными размерами, мощной мускулатурой и большим разнообразием сенсорных и железистых образований, несут хорошо развитые эпителиальные пластинки, расположенные, обычно, в 4 ряда. Иногда встречаются отклонения: 5 рядов эпителиальных пластинок у мирацидиев *Fasciolidae*, 3 ряда у *Gorgoderidae* (Галактионов,

Добровольский, 1998). Ко второй группе относятся личинки с пассивным типом заражения. Они, как правило, мельче активно заражающих мирацидиев, обладают малым количеством эпителиальных пластинок. Кроме того, наблюдаются тенденции к слиянию эпителиальных пластинок, редукции ресничек, желёз и сенсорных образований (Гинецинская, 1968).

При проникновении в хозяина (или после этого) у мирацидия слущиваются эпителиальные пластинки и происходит образование покровов материнской спороцисты. Характер этого явления различается в зависимости от того, в какой момент личинка теряет ресничные клетки (Галактионов, Добровольский, 1998). В первом случае эпителиальные пластинки сбрасываются непосредственно в процессе проникновения. В этом случае, почти сразу же после прикрепления мирацидия, начинается отделение эпителиальных пластинок. Последние отделяются в переднезаднем направлении, начиная с 1 ряда. Сразу вслед за отделением пластинок происходит разрастание гиподермальных гребней. Таким образом, базальная мембрана, обнажающаяся после отделения пластинки, крайне недолго контактирует с внешней средой, либо же не контактирует вообще (Галактионов, Добровольский, 1998).

Во втором случае слущивание пластинок происходит уже внутри хозяина (либо после проникновения, либо после выхода из яйца в случае пассивно заражающих мирацидиев). Здесь процесс протекает несколько иначе. В пластинках происходят дегенеративные изменения и, в результате этого, а также при помощи активного биения ресничек, работы мускулатуры и разрастания гиподермальных гребней, пластинки отделяются от базальной мембраны. При этом не наблюдается какой-либо последовательности, за исключением того, что пластинки 1 ряда отделяются в последнюю очередь (Галактионов, Добровольский, 1998).

Строение стенки тела материнских спороцист

Стенка тела материнской спороцисты представляет собой классический «кожно-мускульный мешок», т.е. состоит из покровов, двух слоев мышечных клеток и дополнительных (часто называемых структурными, звездчатыми, паренхиматозными и т. п.) клеток, выстилающих, а иногда частично заполняющих полость тела паразита.

Покровы всех Neodermata, в том числе и спороцист, это тегумент, Тегумент, одевающий тело спороцисты, можно разделить на 3 зоны. К первой зоне относится синцитиальный слой, непосредственно контактирующий с внешней средой. Он образуется в результате разрастания гиподермальных гребней мирацидия. Своей внутренней стороной он прилежит к базальной мембране. В процессе метаморфоза апикальная поверхность синцития

образует множество микроворсинок, а в цитоплазме клеток возрастает число митохондрий, что указывает на участие тегумента в транспорте питательных веществ (Southgate, 1970; Hockley, 1973). Но при этом, как было показано, например, для *Diplostomum pseudospathaceum*, синцитиальный слой, заполненный фибриллярными элементами, практически полностью лишён органелл (Klag et al., 1997). Там находятся, разве что, одиночные рибосомы, электронно-светлые цистерны и электронно-плотные сферические тела (которые локализованы и в цитонах), вероятно, несущие секреторную функцию.

Ко второй зоне относятся так называемые цитоны тегумента – тела гиподермальных клеток мирацидия. Они, как правило, обладают очень крупными размерами (Гинецинская, 1968). Здесь содержатся ядра и большая часть органелл, например, шЭПР, рибосомы, митохондрии и аппарат Гольджи (Klag et al., 1997). Цитоны, как правило, разделены, но у некоторых трематод (например, представителей Schistosomatidae) они соединены друг с другом перетяжками, образуя, таким образом, синцитиальную сеть (Pan, 1980; Dunn et al., 1987).

К третьей зоне относится множество цитоплазматических мостиков, которые соединяют наружный синцитий и цитоны. Они укреплены микротрубочками и по ним осуществляется внутриклеточный транспорт (Галактионов, Добровольский, 1998).

Собственно мышечные элементы стенки тела состоят из двух типов мышц: слоя кольцевых мышц, залегающего снаружи, и расположенного под ним слоя продольных мышц. В целом, мышечная система развита слабо (Гинецинская, 1968). Впрочем, это характерно не для всех трематод. У тех дигеней, чьи спороцисты обладают герминальными массами, наблюдаются хорошо развитые мышцы, что обусловлено увеличенной плодовитостью и, как следствие, увеличением размеров; кроме того, такие спороцисты, как правило, подвижны (Галактионов, Добровольский, 1998).

Ниже мышечных слоёв расположен следующий слой, образованный совокупностью клеточных тел и отростков. Существует несколько точек зрения касаясь его природы. Некоторые авторы применяют для описания этого слоя термин «паренхима». Таким образом, словом «паренхима» обозначают совокупность клеток, имеющих многочисленные длинные отростки и заполняющих промежутки между другими клетками стенки тела (Podvuznaya, Galaktionov, 2011). К «другим клеткам» относятся цитоны тегумента и миоцитоны, нервные клетки и их волокна, элементы выделительной системы (циртоциты, клетки-каналы и собирательные трубочки протонефридиев), недифференцированные клетки и клетки на разных стадиях дифференциации, а также клетки, формирующие выстилку зародышевой

полости (Podvyaznaya, Galaktionov, 2011). Кроме того, в стенке тела также обнаруживаются железы (Галактионов, Добровольский, 1998).

Не все авторы согласны с такой трактовкой. Согласно другой точке зрения, паренхиматозные клетки не являются отдельной клеточной линией. Паренхима образована цитонами тегумента, миоцитонами и телами клеток иных типов, встречающихся в стенке тела партенит, и не выделяется, как самостоятельная ткань. Более того, в этом случае термин «паренхима» заменяется на термин «эндоциста» (Кремнев, Щенков, 2016).

У представителей таксонов *Vucephalidae* и *Hemiuridae* наблюдается формирование выстилки зародышевой полости. Эта выстилка образована многочисленными отростками некоторых клеток стенки тела, переплетающимися друг с другом. У некоторых видов при этом клетки сливаются друг с другом, формируя синцитий. Существуют разные точки зрения на происхождение этой структуры. По мнению некоторых авторов (Подвязная, 2016) клетки, выстилающие полость тела (во всяком случае, у гемиуридных редий), являются производными структурной ткани герминальной массы.

Иная точка зрения заключается в следующем. Формирование выстилки происходит за счёт специализации особых клеток эндоцисты – «звёздчатых клеток». Они сильно уплощаются и формируют многочисленные отростки, совокупность которых и образует выстилку зародышевой полости (Добровольский и др., 1983; Галактионов, Добровольский, 1998).

Строение стенки тела дочерних спороцист

Второе партеногенетическое поколение в ЖЦ трематод может быть представлено как дочерними спороцистами, так и редиями. Дочерние спороцисты характерны для специализированных групп трематод, например, для отрядов *Strigeidida* и *Plagiorchiida* (Галактионов, Добровольский, 1998). В общих чертах строение их стенки тела похоже на таковое у материнской спороцисты, но при этом имеется ряд отличий.

Покровы дочерних спороцист представлены тегументом (Гинецинская и др., 1965, 1966), наружная пластинка которого подстилается хорошо развитой базальной мембраной. Апикальная его поверхность почти всегда несёт микроворсинки, гребни или ветвящиеся и анастомозирующие структуры (Rees, 1966; Smith, Chernin, 1974, и др.). У многих дочерних спороцист микроворсинки образуют щёточную кайму (Гинецинская и др., 1966, Koie, 1971). Помимо обычных органелл, в пластинке тегумента также содержится большое количество секреторных гранул и вакуолей (Добровольский и др., 1983). Под базальной мембраной

залегают цитоны, соединённые с наружной пластинкой цитоплазматическими мостиками. Интересную особенность имеют дочерние спороцисты подотряда Plagiorchiata. Иммунные клетки хозяина (амебоциты) формируют вокруг тела паразита клеточный слой, называемый мантией. Эти клетки сильно изменяются: они теряют возможность к амебоидному движению, меняется их ультраструктура, сильно увеличивается интенсивность энергетического обмена, в них накапливается большое количество гликогена. Клетки настолько сильно интегрируются в организм паразита, что другие амебоциты, атакующие стареющие спороцисты, принимают их за чужеродные клетки (Добровольский и др., 1983; Галактионов, Добровольский, 1998). В стенке тела дочерних спороцист расположено большое количество желез. Это могут быть как самостоятельные железы, протоки которых открываются на поверхности тегумента (обычно они собраны в группы), так и цитоны, взявшие на себя секреторную функцию (т.н. «кожные» железы), при этом наблюдается их функциональная дифференцировка (Добровольский и др., 1983). У дочерних спороцист Shistosomatidae в тегументе обнаружены шипы (Meuleman et al., 1980).

Предполагается, что состав гликокаликса дочерних спороцист соответствует гликокаликсу тканей моллюска. Таким образом, паразит избегает иммунного ответа со стороны организма хозяина. Тем не менее, нельзя говорить об этом с абсолютной уверенностью, поскольку известно, что у спороцист некоторых трематод задолго до прекращения своей активности начинается дегенерация тегумента (Галактионов, Добровольский, 1998).

Нервная система дочерних спороцист, также залегающая в толще стенки тела, хорошо выражена только у молодых организмов. В дальнейшем она дегенерирует (Галактионов, Добровольский, 1998). Центральные отделы нервной системы представлены ганглиозной массой в передней части тела и двумя продольными нервными стволами (Котикова, 1971). Сенсорные образования представлены, главным образом, одиночными сенсиллами, большая часть которых расположена на переднем конце тела (Добровольский и др., 1983).

В состав стенки тела также входят и элементы выделительной системы, которая усложняется по мере развития спороцисты. У дочерних спороцист микрофаллид собирательные каналы протонефридиев образуют тонкую сеть, охватывающую значительную часть тела паразита (Галактионов, Добровольский, 1998).

Мышечные элементы стенки тела дочерних спороцист представлены кольцевыми и продольными мышцами, расположенными так же, как и в материнских спороцистах. Степень их развития определяется подвижностью паразита. Как правило, дочерние спороцисты не

сохраняют подвижность, так что их мышечный аппарат выражен слабо (Добровольский и др., 1983).

Дочерние спороцисты обладают хорошо выраженной полостью тела, которая имеет собственную выстилку, образованную «звёздчатыми клетками» (Добровольский и др., 1983).

Строение стенки тела редий

Второй вариант дочернего партеногенетического поколения представлен редиями. Эти организмы имеют много общих черт с дочерними спороцистами, но, вместе с тем, имеют и ряд существенных отличий. Во-первых, редии свойственны примитивным трематодам, таким как представители семейств Fasciolidae, Echinostomatidae, Paramphistomatidae, Psilostomatidae и т.д., но могут встречаться и у более специализированных групп (Halipegidae, Aporocotylidae и т.д.) (Галактионов, Добровольский, 1998). Во-вторых, редии, в отличие от дочерних спороцист, имеют пищеварительную систему. Степень её развития может сильно варьировать (например, материнские редии семейства Philophthalmidae не имеют даже намёков на пищеварительную систему) (Добровольский и др., 1983). В-третьих, редии так или иначе сохраняют подвижность на протяжении всей своей жизни, в то время как дочерние спороцисты зачастую утрачивают её в процессе своего развития (Добровольский и др., 1983).

Покровы редий представлены типичным тегументом (Добровольский и др., 1983). Снаружи, как и у прочих партенит, находится цитоплазматическая пластинка, подостланная базальной мембраной. Наружная поверхность пластинки может нести гребни и микроворсинки, которые выражены не так явно, как у дочерних спороцист. При этом наблюдается корреляция со степенью развития пищеварительной системы. Таким образом, редии с хорошо развитым кишечником имеют небольшие гребни и микроворсинки, редко разбросанные по поверхности тела, а редии с редуцированным или отсутствующим кишечником несут густой слой выростов и разветвлённых микроворсинок, анастомозирующих друг с другом (Галактионов, Добровольский, 1998). У редий *Proterometra macrosoma*, у которых не развивается пищеварительная система, наружная поверхность пластинки тегумента образует многочисленные инвагинации, формируя систему перпендикулярных базальной мембране каналов, которые открываются наружу порами. Предполагается, что эти каналы участвуют в транспорте питательных веществ (Uglen, Lee, 1985). Как и в случае дочерних спороцист, очень многие клеточные тела погружённого эпителия берут на себя секреторную функцию, продуцируя при этом секреты разного характера. Кроме них в стенке тела могут встречаться самостоятельные

одноклеточные железы. В отличие от дочерних спороцист, железистые образования редий весьма разнообразны и могут быть объединены в несколько групп на основе выполняемой функции (Добровольский и др., 1983). К первой группе относятся так называемые «головные» железы, расположенные на переднем конце тела. Вторую группу составляют железы, ассоциированные с локомоторными выростами и задним концом тела. Предполагается, что они участвуют в локомоции. Секреторные образования третьей группы являются пищеварительными железами и не связаны со стенкой тела. И, наконец, последнюю группу составляют «кожные» железы – цитоны тегумента, которые приобрели секреторную функцию, и одиночные железы, открывающиеся на поверхности тегумента. Обычно они более-менее равномерно распределены по поверхности тела паразита (Добровольский и др., 1983). Со стенкой тела связаны элементы нервной системы, которая у редий развита лучше, чем у дочерних спороцист, кроме того, она сохраняется на протяжении всей жизни партениты. Центральные отделы представлены поясковидным ганглием, от которого отходят 4 продольных нервных ствола, два из которых тянутся к переднему, а два – к заднему концу тела редии (Гинецинская, 1968). Органы чувств представлены сенсиллами нескольких типов (Irwin et al., 1978; Тихомиров, 1980; Rees, 1981; Czubaj, Niewiadomska, 1988, и др.). Элементы выделительной системы также залегают в толще стенки тела. Как и в случае дочерних спороцист, система усложняется в течение жизни паразита.

Под тегументом залегают кольцевой и продольный мышечные слои. Поскольку редии подвижны, на протяжении всей их жизни мышечные элементы выражены достаточно хорошо (Добровольский и др., 1983). В то же время, у редий рода *Petasiger* оба мышечных слоя (особенно продольный) развиты очень слабо (Гинецинская, 1968).

Зародышевая полость редий хорошо выражена и имеет выстилку, образованную «звёздчатыми клетками». Кроме того, эндоциста одевает кишечник.

Т. о., подводя итог всему сказанному выше, можно констатировать несколько общих положений. С одной стороны, партениты трематод характеризуются удивительным морфологическим и анатомическим разнообразием, что в известной степени определяется особенностями их локализации в хозяине и, соответственно, поведения. С другой же стороны, при всём этом многообразии им присущ единый план строения.

Leucochloridium paradoxum

Жизненный цикл

Жизненный цикл трематод из рода *Leucochloridium* (и *L. paradoxum* в частности) интересен тем, что в нём отсутствуют свободноживущие в водной среде стадии (таким образом, эти паразиты полностью перенесли свой цикл в наземную среду, что характерно для представителей надсемейства Brachylaimoidea. Исключение из этого правила составляют лишь представители сем. Leucochloridiomorphidae, чьи жизненные циклы реализуются с участием пресноводных брюхоногих моллюсков.

Дефинитивным хозяином *L. paradoxum* являются Воробьинообразные птицы. Однако известны случаи нахождения марит в представителях таких отрядов, как Куриные, Крачки, Кулики, Кукушки, Ржанкообразные, Журавлеобразные и Аистообразные (Атаев, Токмакова, 2015). Половозрелые черви откладывают яйца, которые попадают во внешнюю среду с фекалиями птиц (Гинецинская, 1968). После этого они проглатываются промежуточными хозяевами – брюхоногими моллюсками *Succinea putris* Linnaeus, 1758. В пищеварительном тракте улитки происходит вылупление мирацидия, который, прободая стенку кишки, мигрирует в печень хозяина (Гинецинская, 1968), где претерпевает метаморфоз и превращается в спороцисту. Эта стадия продуцирует метацеркарий, которые инцистируются внутри тела спороцисты. Затем гермафродитное поколение поступает в выводковые камеры, которые должны быть проглочены дефинитивным хозяином для завершения жизненного цикла.

Внешнее строение спороцисты *Leucochloridium paradoxum*

Партениты трематод рода *Leucochloridium* устроены нехарактерным образом для дигеней в целом (и для брахилаимоеид в частности). Ветвящееся тело спороцисты разделено на несколько частей, каждая из которых выполняет свои более или менее строго определенные функции. Это разделение принимается многими исследователями (Bakke, 1980; Pojmanska, Machaj, 1991; Атаев и др., 2013).

Обычно в теле выделяют:

1. Ветвящийся центральный участок;
2. Трубчатые участки;
3. Выводковые камеры.

Каждый из этих компартментов имеет отличительные черты (как морфологические, так и функциональные). В центральном участке залегают герминальные массы и протекают основные процессы размножения (Атаев и др., 2013). Трубчатые участки соединяют центральный участок с выводковыми камерами, которые, будучи заполненными

метацеркариями, проникают в глазные щупальца хозяина. Активно пульсируя, они имитируют движения личинок насекомых, чтобы привлечь дефинитивного хозяина (Lewis, 1977). Литературные данные свидетельствуют о том, что вышеуказанные компартменты различаются по своему внутреннему строению.

Внешнему строению спороцист рода *Leucochloridium* (и *L. paradoxum* в частности) было посвящено значительное число работ (Wesenberg-Lund, 1931; Woodhead, 1935; Honer, 1960; Bakke, 1980). Стоит отметить, что при этом основное внимание обычно уделялось пигментированным зародышевым мешкам (выводковым камерам).

По описаниям Bakke (Bakke, 1980), выводковые камеры в норме имеют вытянутую цилиндрическую форму. Дистальный конец округлый, в то время как проксимальный, наоборот, сужается и становится коническим. Основная окраска камеры варьирует от белого до светло-жёлтого/оранжевого, или зелёноватого. Цвет и распределение пигментных гранул варьирует по продольной оси тела, но остаётся более-менее постоянным в каждом из трёх отделов, на которые можно разделить выводковую камеру.

Первая часть (наиболее дистальная) содержит множество выпуклых пятен, окраска которых может быть коричневой, тёмно-коричневой или почти чёрной. Помимо этого, данный отдел выводковой камеры несет несколько (от 3 до 6) поперечных полос (красных, коричневых или тёмно-коричневых). Наконец, проксимальнее всего расположена относительно широкая зелёная полоса, постепенно приобретающая тёмно-зелёный оттенок. От следующей участка выводковой камеры эта полоса отграничена коричневыми пятнами. Вторую часть можно дополнительно поделить на 2 участка. Дистальный участок состоит из 2 или 3 светло-зелёных полос, более-менее непрерывных и слитых воедино, которые разделены белыми участками. Проксимальный участок представлен одной непрерывной тёмно-зелёной полосой (впрочем, иногда встречаются варианты с коричневым/желтоватым оттенком).

Проксимальный край этой полосы несёт выпуклые тёмно-зелёные пятна. Иногда внутри могут располагаться маленькие белые полоски, затрудняющие разграничение двух участков. Наконец, третья часть дистально имеет светло-зелёный оттенок. На всём своём протяжении она покрыта более-менее непрерывными и слитыми полосками, окраска которых варьирует от зелёной (дистальная часть) до жёлтой/коричневой или оранжевой (центрально) и оранжевой/зелёной (проксимально). Помимо этого, дистально в третьей части располагаются выпуклые пятна или полосы, окрашенные в оранжевый или зеленоватый цвет.

Более раннее описание, сделанное Honer (Honer, 1960), несколько отличается от представленного выше. Он писал (считая, при этом, зародышевые камеры отдельными

спороцистами), что пигмент, организованный в небольшие глыбки, распределяется по более-менее спиральному паттерну. По большей части, он сосредоточен в концевом участке зародышевого мешка. Помимо этого, он описывал множество маленьких пятен, распределённых по стенке камеры и покрывающих первый и второй её сегменты.

Woodhead (Woodhead, 1935), работая, в числе прочих, с зелёными спороцистами (при этом он не привязывал их к какому-либо определённом виду), описал достаточно интересный вариант внешней морфологии спороцисты. По его данным, выводковые камеры партенит такого вида более тонкие и многочисленнее, чем у красно-коричневых особей, описанных в той же работе, кроме того, он отметил меньшую длину трубковидных участков. На дистальном конце спороцисты располагаются бородавчатые, ярко окрашенные выросты, цвет которых варьирует от красного до красно-коричневого. Терминальный вырост значительно увеличен по сравнению с остальными. Следом располагается небольшая пёстро-зелёная зона на бесцветном фоне. В ней также встречаются небольшие красные круглые пятна, ассоциированные с непрозрачными овальными белыми пятнами. За этой зоной идёт широкая зелёная полоса, ниже которой тянутся продольные зелёные полосы, разделённые белыми участками. В зависимости от возраста спороцисты, зелёный цвет меняется с ярко зелёного на сине-зелёный, нефритово-зелёный и, в самых старых выводковых камерах, на глубокий оливково-зелёный. Продольные полосы продолжают дальше в виде красно-коричневых полос (глубина окраски также варьирует). Между красными и зелёными полосками ткань имеет белый оттенок (но не прозрачный). Оставшиеся две трети зародышевого мешка окрашены в канареечно-жёлтый цвет с заметными светло-жёлтыми кольцами. Когда передняя часть камеры приобретает оливковый цвет, на этих кольцах также появляются вкрапления тёмно-оливкового пигмента. Приведённое выше описание во многом не соответствует типичному для спороцист *L. paradoxum*. В связи с этим возникают подозрения, что Вудхед описывал спороцисту другого вида.

Общие особенности строения

Строение покровов различается в компартментах, на которые поделено тело спороцисты. Однако, существуют общие принципы организации, которые характерны для всех (или почти всех) отделов.

Одной из таких «общих» структур является мантия – слой гемоцитов хозяина, распределённых по поверхности наружной пластинки тегумента паразита. Такие структуры, как считалось, не характерны для Brachylaimoidea (Ataev et al., 2013).

Покровы устроены, в общем, обычным для трематод образом (то есть, как типичный тегумент). Наружная часть тегумента (то есть, синцитиальная наружная пластинка) покоится на базальной мембране, имеющей коллагеновую природу, соединяясь цитоплазматическими мостиками с внутренней клеточной частью – цитонами (Начева и др., 1981). В синцитиальной части было обнаружено множество включений, таких как митохондрии, вакуоли, везикулы, микротрубочки и т.д., что, по мнению некоторых авторов, подтверждает предположение об участии наружной пластинки тегумента в поглощении питательных веществ. Однако не было обнаружено пиноцитозных комплексов, которые могли бы подтвердить гипотезу о пиноцитозном питании (Pojmanska, Machaj, 1991). Во всех отделах наружная пластинка образует большое количество микровиллей, количество и особенности организации которых варьируют в разных компартментах (Pojmanska, Machaj, 1991). Микровилли погружены в слой гликокаликса (Zdarska, Soboleva, 1984).

По данным некоторых авторов, под базальной мембраной залегает так называемый субэпидермальный фибриллярный слой (Storch, Welsch, 1970), степень развития которого также варьирует в разных отделах (Pojmanska, Machaj, 1991).

Ниже базальной мембраны и подстилающего её фибриллярного слоя залегают слои сократимых мышечных элементов. В общем, их организация соответствует общему для трематод «шаблону». В теле спороцисты встречаются как продольные, так и сократимые мышечные элементы (Storch, Welsch, 1970). Некоторые детали их организации различаются в разных компартментах (Pojmanska, Machaj, 1991).

Под вышеописанными элементами залегает слой цитонов тегумента, который включает в себя как ядросодержащие части синцитиальной наружной пластинки, так и миоцитоны.

В литературе не встречается никаких упоминаний о наличии каких-либо элементов выделительной системы у спороцист рода *Leucochloridium*.

Упоминание о наличии нервной системы встречается в работе Пойманской и Махайи (Pojmanska, Machaj, 1991). Авторы описали всего два элемента: структура под базальной мембраной в центральном участке, напоминающая корешок реснички нервного окончания, и профили нервных отростков в выводковых камерах, содержащие везикулы 3 типов (о чём далее будет написано более подробно).

Центральный столон

Наружная пластинка тегумента образует небольшое количество нерегулярно ветвящихся микровиллей. Толщина слоя гликокаликса, покрывающего поверхность центрального столона, превышает длину микровиллей. Дистальная часть этого слоя более плотная, чем проксимальная (Pojmanska, Machaj, 1991). Помимо вышеперечисленных структур, на поверхности наружной пластинки тегумента присутствует довольно рыхлая и сильно перфорированная мантия. На фотографиях, полученных при помощи сканирующего электронного микроскопа, хорошо видны псевдоподии и ядра гемоцитов моллюска (Ataev et al., 2013). В цитоплазме наружной пластинки встречаются везикулы, заполненные содержимым средней плотности, а также митохондрии. Всё это сопровождается большим количеством микротрубочек. Кроме этого, между внутренней и наружной границами пластинки попадают вытянутые узкие структуры, расположенные диагонально к поверхности тела – паракристаллические включения (Pojmanska, Machaj, 1991).

Наружную пластинку тегумента подстилает базальная мембрана, состоящая из электрон-плотного вещества, которая, в свою очередь, покоится на фибриллярном слое (Pojmanska, Machaj, 1991).

Ниже слоя фибрилл располагается слабо развитый слой сократимых мышечных элементов (Pojmanska, Machaj, 1991).

Цитоны соединены с наружной пластинкой цитоплазматическими мостиками, в которых обнаруживаются микротрубочки и везикулы. В самих клеточных телах располагаются ядра, овальные профили митохондрий разных размеров, везикулы и хорошо развитый шероховатый эндоплазматический ретикулум (Pojmanska, Machaj, 1991).

По некоторым данным, в центральном столоне располагаются органы размножения партенит – герминальные массы. В их состав входят недифференцированные клетки, способные к делению и соответствующие первичным гониям женской гонады, а также находящиеся на разных стадиях специализации генеративные клетки. Герминальные массы закладываются в связи со стенкой тела спороцисты (Атаев и др., 2013).

Трубковидные участки

Наружная пластинка тегумента образует большое количество сильно ветвящихся микровиллей. Гликокаликс не выступает за кончики выростов и на всём своём протяжении имеет однородную плотность. В цитоплазме наружной пластинки не было обнаружено каких-либо включений, однако внутренняя её граница формирует многочисленные

впячивания. Хорошо развитая, толстая базальная мембрана покоится на мощном фибриллярном слое (Pojmanska, Machaj, 1991).

Сократимые мышечные элементы (как кольцевые, так и продольные) многочисленны, окружены материалом фибриллярного слоя (Pojmanska, Machaj, 1991).

Цитоны тегумента несут крупные, округлые ядра, а также митохондрии. Между клеточными телами и сократимыми мышечными элементами встречаются овальные профили пигментных гранул, различающиеся по размерам (Pojmanska, Machaj, 1991).

Выводковые камеры

Как и в центральном столоне, на выводковых камерах удалось обнаружить мантию, которая, однако, здесь устроена иначе. Гемоциты формируют тонкий непрерывный слой, ядра которого не видны на фотографиях с СЭМ. Тегумент в терминальных частях выводковых камер образует утолщения, соответствующие тёмным коричневым пятнам на спороцисте (Ataev et al., 2013). Микровилли в этой части тела спороцисты очень плотные и сильно ветвящиеся. Гликокаликс, как и в трубковидных участках, не выходит за пределы микровиллей и имеет одинаковую плотность на всём своём протяжении. В цитоплазме наружной пластинки были найдены многочисленные крупные митохондрии с хорошо развитыми кристами и вакуоли разных размеров. Ждарска и др. (Zdarska et al., 1982) обнаружили там, ко всему прочему, неправильные плотные тела, тубулярные структуры и одиночные кристаллические тела, окружённые мембраной. Кроме того, в выводковых камерах удалось обнаружить профили нервных отростков. Последние содержали в себе три морфологически различных типа везикул: маленькие электрон-светлые везикулы, крупные электрон-светлые везикулы и крупные везикулы с плотным ядром, несущие светлый ободок, отделяющий электрон-плотное содержимое от везикулярной мембраны (Pojmanska, Machaj, 1991).

Слой фибрилл, подстилающий базальную мембрану, здесь очень толстый, фибриллярный материал окружает сократимые мышечные элементы и цитоны. Диаметр фибрилл примерно 6 нм (Pojmanska, Machaj, 1991).

Цитоны, помимо ядер, несут большое количество митохондрий. Цитоплазматические мостики содержат многочисленные микротрубочки (Pojmanska, Machaj, 1991).

Отличительной чертой выводковых камер является наличие в их стенке тела гранул пигмента, придающих им характерную окраску. Ряд исследователей (Ataev et al., 2013;

Начева, 1981; Zdarska et al., 1982) обнаружили в стенке тела спороцисты пигментные клетки. Атаев с соавторами (Ataev et al., 2013) считают, что эти клетки продуцируют жёлто-коричневый пигмент, который распределяется по внешнему слою тегумента, придавая выводковой камере жёлтую окраску. Наивысшая концентрация этого пигмента наблюдается в выростах пигментных клеток, тянущихся к наружной пластинке. Эти клетки располагаются вокруг утолщений на терминальных участках выводковых камер, что обуславливает тёмно-коричневый цвет последних. На фотографиях с СЭМ также заметны полосы, соответствующие территориям, несущим зелёный пигмент, однако его происхождение и природа неясны. Начева и др. (1981) считают, что зелёные гранулы образуются путём слияния двух жёлто-коричневых гранул, однако прямых доказательств этому нет. Косвенными подтверждениями этой гипотезы могут считаться размеры зелёных гранул (они в два раза крупнее жёлто-коричневых), а также относительная нестабильность зелёного пигмента.

В работе Начевой и др. (1981) отмечается, что пигментные гранулы накапливаются в наружной пластинке тегумента, вблизи базальной мембраны. Иногда зёрна пигмента сливаются в крупные глыбки, заполняя весь наружный тегумент (такие места соответствуют тёмным линиям окраски на поверхности выводковой камеры). Кроме того, авторы говорят о трёх типах пигментных клеток, несущих оранжево-бурые, зелёные и коричневые гранулы. Тяжи таких клеток тянутся между продольными мышцами, снаружи их окружает зона, в которой пигмент в большом количестве накапливается в межклеточном веществе.

Работа же Ждарской и др. (Zdarska et al., 1982) свидетельствует о том, что крупные пигментные гранулы располагаются среди сократимых мышечных элементов. Такие же пигментные гранулы также встречаются в глубоких слоях «паренхимы». Кроме того, встречаются крупные пигментные клетки, несущие множество маленьких овальных гранул. Ядра в таких клетках крупные, пузыревидные, содержат малое количество хроматина, а также ядрышки. Таким образом, авторы выделяют 2 типа гранул: крупные, в сократимых мышечных элементах и паренхиме, и мелкие овальные, в пигментных клетках. Однако эти исследователи так и не ответили на вопрос: какие из них отвечают за зелёный, а какие — за коричневый цвета.

Глава 2. Материалы и методы

Материалом для настоящей работы послужили спороцисты трематод вида *Leucochloridium paradoxum*, собранные в разных географических точках Петергофа и Санкт-

Петербурга в течение октября—ноября 2017 года. Партениты извлекались из хозяев путём стандартного паразитологического вскрытия.

Сбор моллюсков вида *Succinea putris* проводился в Южно-Приморском парке, а также в районе Английского пруда, в районе прудов вдоль Петергофской улицы и в окрестностях Академической гимназии СПбГУ. Кроме того, часть материала была собрана в двух точках возле Суздальского озера и любезно предоставлена магистром кафедры зоологии беспозвоночных СПбГУ В. Калашниковой. Моллюски содержались в аэрируемых контейнерах, в холодильнике, при температуре 6–10 °С.

Извлечение партенит из зараженных моллюсков осуществляли в чашках Петри, заполненных физиологическим раствором. Вся операция осуществлялась под биноклем МБС-10. Извлечённые спороцисты были зафиксированы в растворе Ценкера, в который была добавлена ледяная уксусная кислота (10:1, мл; по Иванов и др., 1981).

Фиксированный материал был обезвожен путём проведения по серии спиртов и переведён в жидкость Петерфи (по: Иванов и др., 1981). В ней объекты выдерживались, как минимум, семь дней. После этого материал был окончательно обезвожен в хлороформе и переведён в смесь хлороформа и гистомикса («ГистомиксTM», 1:1) на ночь, после чего он был заключён в чистый «ГистомиксTM».

Из получившихся блоков при помощи микротомов Leica RM2265 и Leica RM2235 были изготовлены серии срезов толщиной 5 микрон. Срезы были проведены до воды через ксилол и серию спиртов, после чего были окрашены либо чистым гематоксилином Эрлиха (40-60 минут), либо гематоксилином Эрлиха с дополнительной подкраской спиртовым раствором эозина (0,5-1 минута). После окраски гематоксилином в обоих случаях срезы были дифференцированы в кислом спирту (этиловый спирт с добавлением 0,1 молярного раствора HCl), после чего отмыты в проточной воде (40 минут). Окрашенные срезы были проведены через серию спиртов и ксилол и заключены в синтетическую среду «BiomountTM».

Часть срезов была окрашена по Маллори для лучшего выявления сократимых мышечных элементов и базальной пластинки тегумента. Препараты были предоставлены магистром кафедры зоологии беспозвоночных СПбГУ Г. А. Кремневым.

Готовые гистологические срезы были изучены при помощи микроскопа Leica DM500. Рисунки были сделаны при помощи микроскопа Leica DM1000 с установленным рисовальным аппаратом, после чего они были отсканированы и обработаны в программе Adobe Photoshop CS2. При помощи микроскопов Zeiss AXIO Imager A1 и Leica DM2500

были сделаны фотографии, которые также обрабатывались в программе Adobe Photoshop CS2.

Список условных обозначений к иллюстрациям:

БСЭМП – блоки сократимых элементов продольной мускулатуры, БП – базальная пластинка, ВПТ – выстилка полости тела, ВК – выводковая камера, НПТ – наружная пластинка тегумента, ПО – периферический отросток, РВК – развивающаяся выводковая камера, СЭКМ – сократимые элементы кольцевой мускулатуры, СЭПМ – сократимые элементы продольной мускулатуры, СЦ – слой цитонов (цитоны тегумента и миоцитоны), ТУ – трубковидный участок, ЦУ – центральный участок.

Глава 3. Результаты

Общий план строения спороцисты

На основании литературных и полученных нами данных мы выделили в теле партениты 4 отдела, различающихся функционально и морфологически (рис.1).

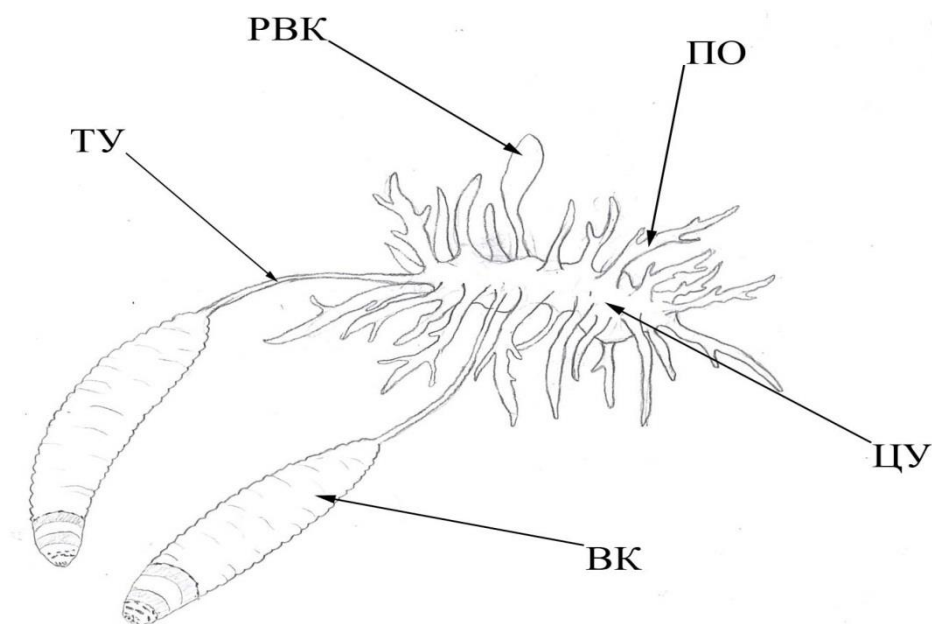


Рис.1. Генерализованная схема строения спороцисты *L. paradoxum*.

Первый отдел — это центральный участок. Он представляет собой вытянутую мешковидную структуру с большим количеством выростов, в которой протекают основные процессы размножения. Второй отдел — это периферические отростки, которые радиально отходят от центрального столона, пронизывая гепатопанкреас моллюска. Они способны ветвиться с образованием отростков 2 и 3 порядков. Третий отдел — это трубковидные

участки. Они представляют собой тонкие и длинные структуры, соединяющие между собой центральный столон и выводковые камеры. И, наконец, четвёртый отдел – это выводковые камеры, крупные концевые отделы тела спороцисты, которые проникают в глазные щупальца моллюска и служат для передачи особей гермафродитного поколения окончательному хозяину.

Центральный участок

Под центральным участком мы подразумеваем ограниченную стенкой тела крупную (относительно других частей тела) полость, от которой отходят остальные компартменты. Строение этого отдела поразительно отличается от остальных участков тела спороцисты.

Мы обнаружили на срезах два расположенных рядом участка, которые можно было бы трактовать как центральный (далее они именуются «№1» и «№2») (рис. 2). Вероятно, они соединяются между собой, но место соединения обнаружить не удалось (скорее всего, оно было потеряно в процессе изготовления препаратов).

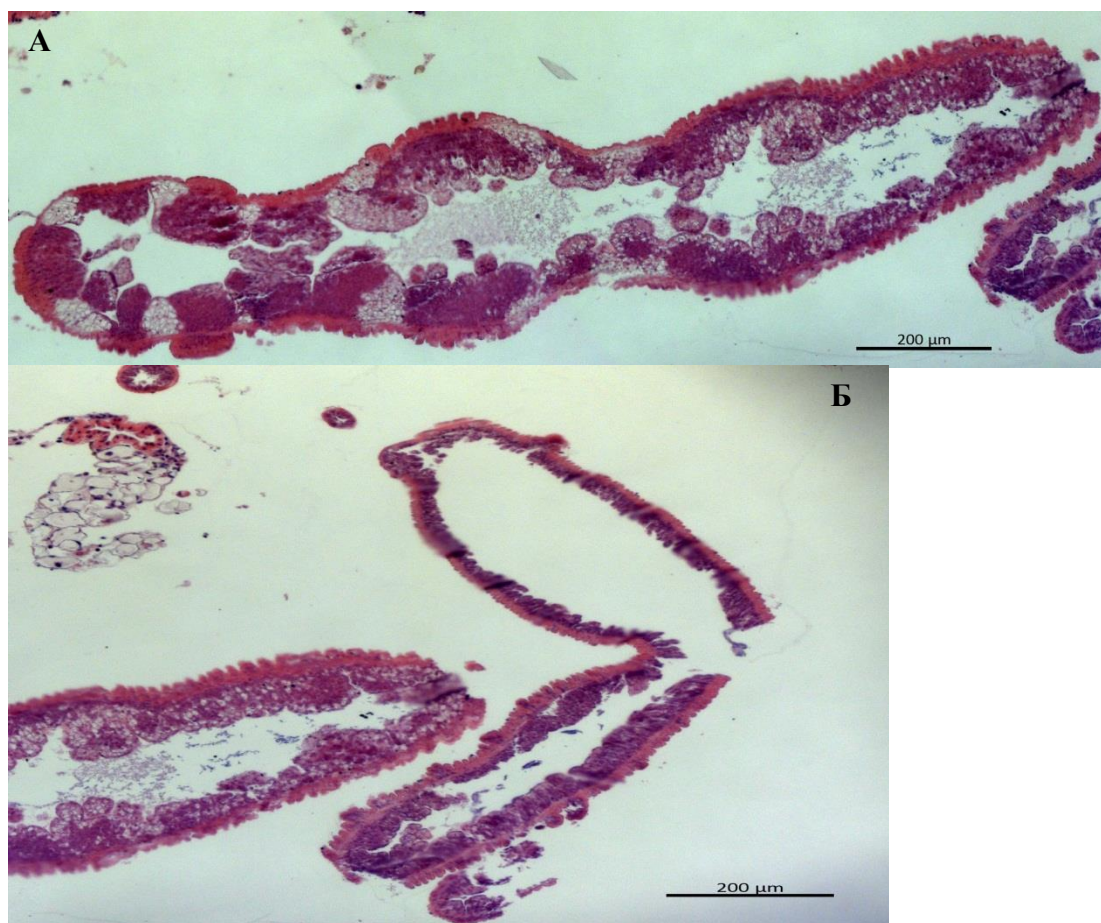


Рис.2. Поперечный срез через центральный отдел спороцисты.

А – участок №1, Б – участок №2.

Участок №1 имеет значительные размеры и характеризуется совершенно уникальным устройством стенки тела. В её составе чередуются 4 варианта организации тканей, которым мы, для простоты, дали следующие названия:

- 1)«Полностью вакуолизированный участок» (ПВУ);
- 2)«Сильно вакуолизированный участок» (СиВУ);
- 3)«Слабо вакуолизированный участок»(СлВУ);
- 4)«Опухолевый участок» (ОУ).

Участки, которые обозначены как ПВУ (рис. 3, 4), имеют незначительные размеры и всегда располагаются между другими участками. Они образованы, в большинстве своём, крупными, очень сильно вакуолизированными клетками, вакуоли в которых занимают почти весь объём цитоплазмы. Наружная пластинка тегумента в таких участках значительно истончается (по сравнению с остальными участками). Мышечные элементы в ПВУ практически неразличимы. Толщина клеточного слоя в ПВУ также уменьшается относительно других участков. Ядра встречаются редко, их можно поделить на два типа:

- 1)Мелкие ядра, иногда неправильной формы, с одним ядрышком;
- 2)Крупные ядра округлой формы, с несколькими ядрышками.

Слой цитонов отграничен от хорошо выраженной полости тела отчётливо заметной выстилкой.

СиВУ (рис. 3, 4) занимают достаточно большой объём стенки тела спороцисты. Наружная пластинка тегумента в этих местах характеризуется значительной толщиной и образует мощные складки. Сократимые мышечные элементы выражены в разной степени. Кольцевые мышцы видны хорошо, продольные же мышцы различимы плохо. Клеточный слой обладает значительной толщиной. Основная его масса составлена крупными клетками каплевидной или веретеновидной формы с большими, относительно округлыми ядрами, несущими, как правило, одно ядрышко. Ближе к внутренней границе слоя цитонов сосредоточены вакуолизированные клетки с мелкими ядрами. СиВУ также обладают хорошо выраженной выстилкой полости тела.

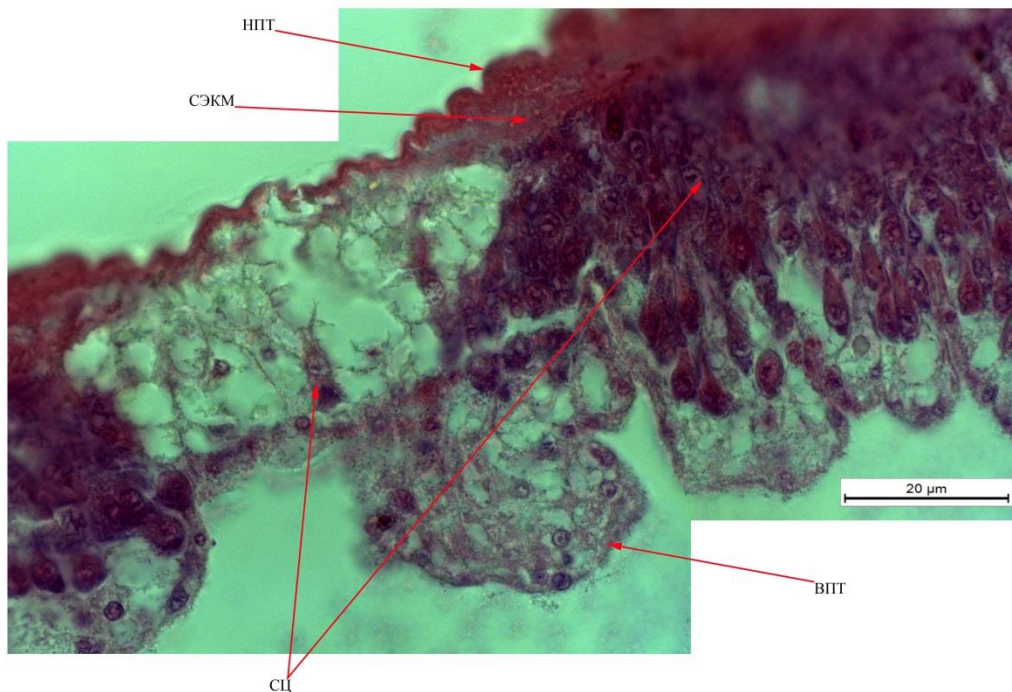


Рис.3. Участки ПВУ (слева) и СиВУ (справа).

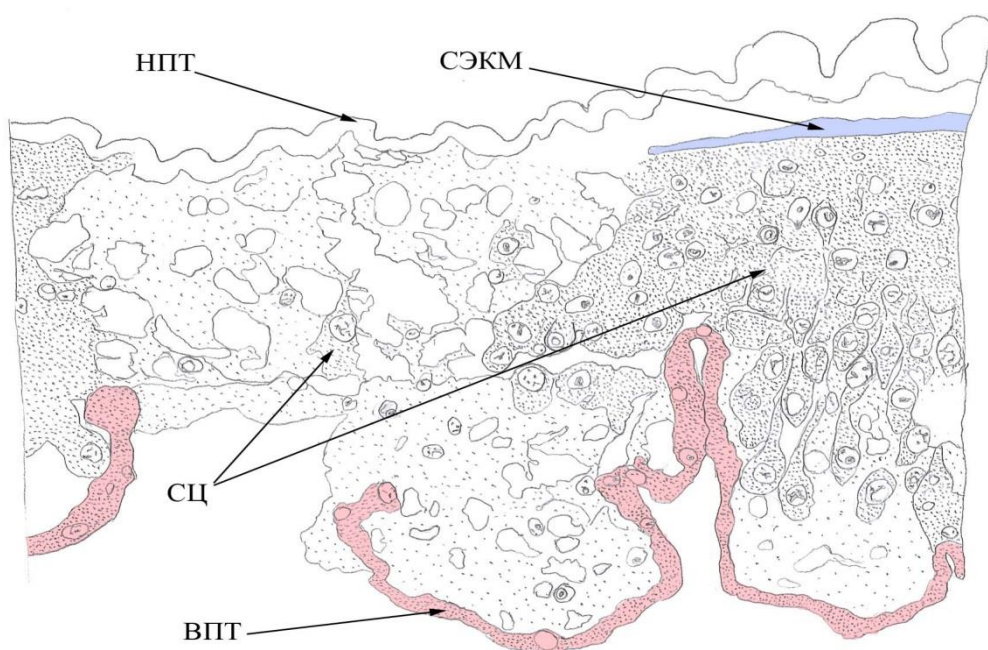


Рис.4. Схема гистологического строения ПВУ (слева) и СиВУ (справа).

СлВУ (рис. 5, 6) занимают основной объем стенки тела спороцисты. Они также обладают мощной пластинкой тегумента, образующей характерные складки. Сократимые мышечные элементы устроены так же, как и в участке предыдущего типа. Толщина клеточного слоя сравнима с таковым в СиВУ. Основная масса клеток характеризуется крупными размерами и каплевидной или веретеновидной формой. Ядра крупные, более-менее округлые, обычно с одним ядрышком. Вакуолизированные клетки так же, как и в СиВУ, располагаются ближе к внутренней границе клеточного слоя (хоть и не в таком количестве). Однако, помимо этого,

они также встречаются по всей толщине слоя цитонов. Ядра в таких клетках обладают небольшими размерами. Выстилка полости тела хорошо выражена.

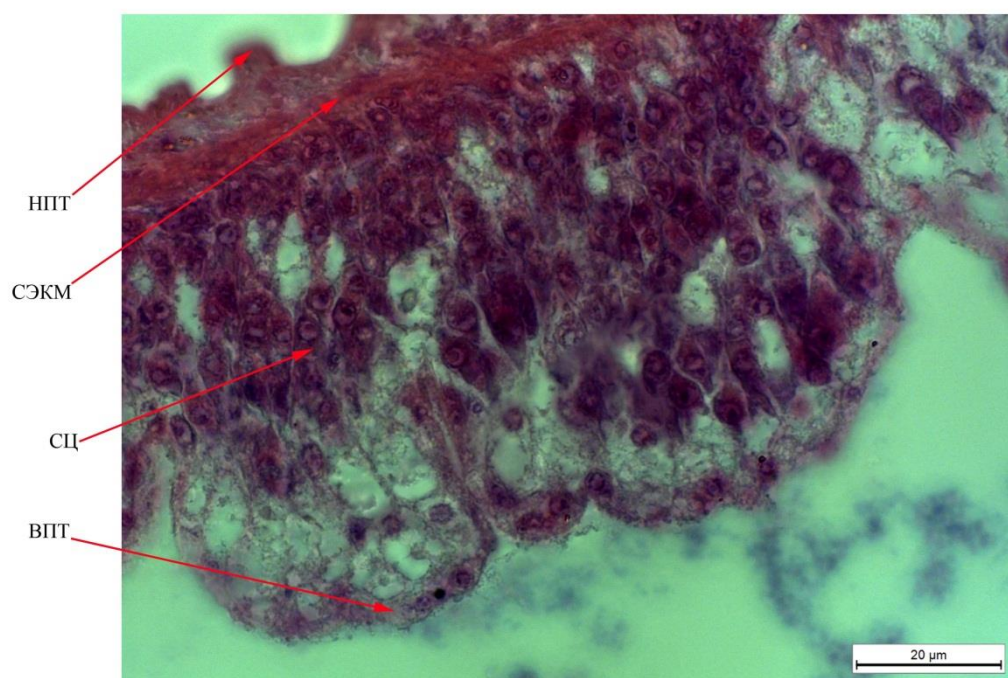


Рис.5. Участок СлВУ.

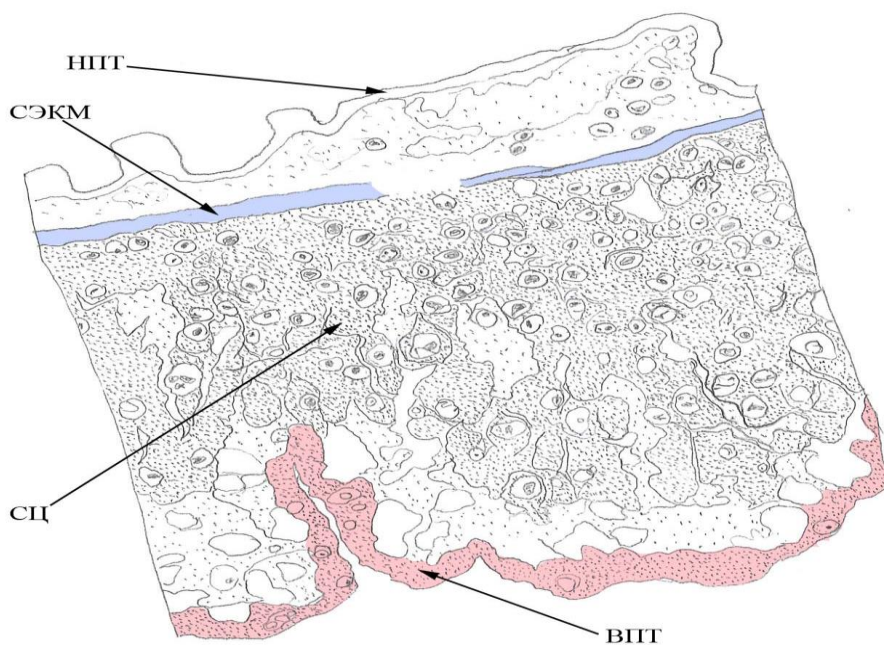


Рис.6. Схема гистологического строения СлВУ.

ОУ (рис. 7, 8) так же, как и ПВУ, обладают небольшими размерами. Наружная пластинка тегумента в этих участках образует крупные утолщения (напоминающие опухоли, в связи с чем им и было дано такое название). Организация сократимых мышечных элементов соответствует таковой у остальных участков (кроме ПВУ). Клеточный слой обладает значительной толщиной. Подавляющее большинство цитонов имеет крупные размеры. Клетки уложены плотно, поэтому об их форме судить затруднительно. Ядра крупные, зачастую с несколькими ядрышками. Небольшое количество вакуолизированных клеток сосредоточено возле выстилки полости тела, которая в этом участке также хорошо выражена.

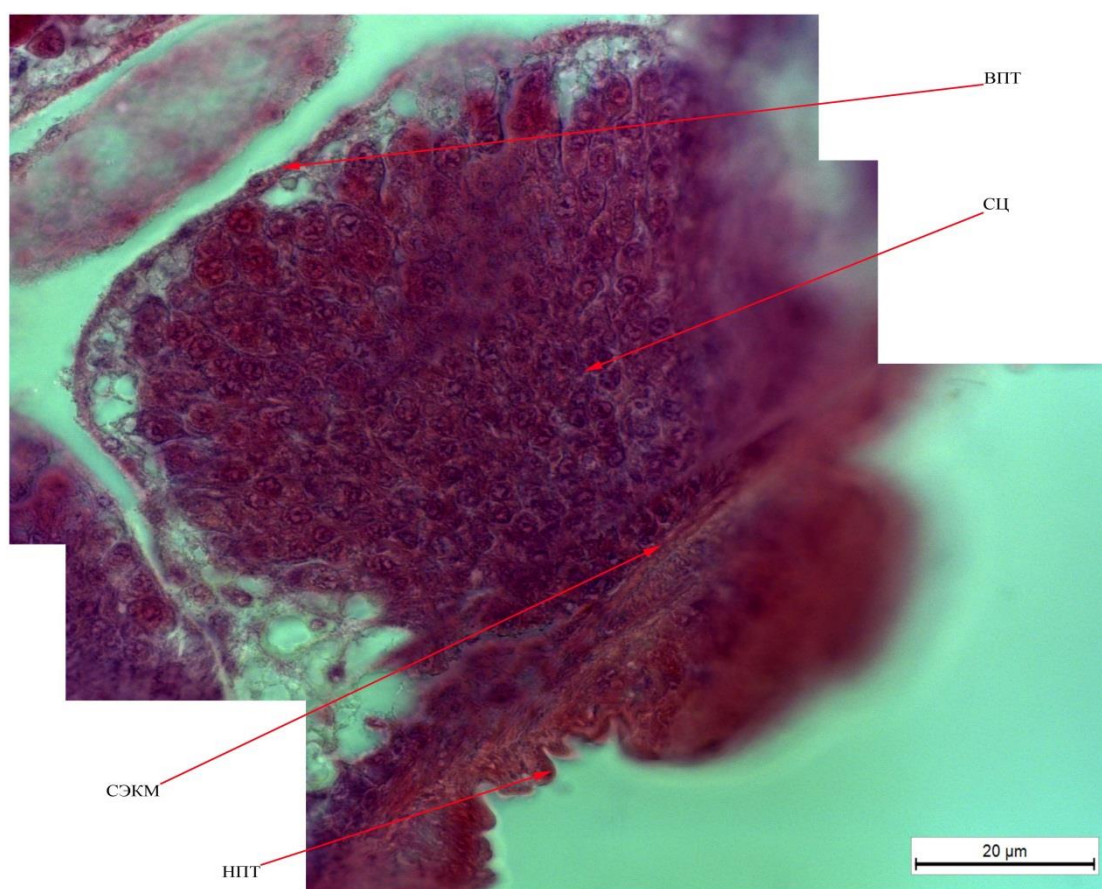


Рис.7. Участок ОУ.

Для всех участков, кроме ПВУ, в разной степени характерно наличие клеточных элементов над мышечными слоями.

Участок №2 также имеет большой размер, но при этом устроен значительно проще. Мы выделили в нём три зоны, которые морфологически отличаются друг от друга. Все три зоны имеют общую особенность — их наружная пластинка тегумента образует крупные складки, заполненные клеточными элементами.

Первая зона (рис. 9, 10) характеризуется наименьшей величиной складок наружной синцитиальной пластинки. Кольцевые мышечные элементы видны хорошо, продольные не обнаруживаются. Слой цитонов имеет незначительную толщину. Клетки имеют вытянутую форму, несут различающиеся размерами округлые ядра. Выстилка полости тела хорошо выражена и образована уплощёнными клетками.

Вторая зона (рис. 11, 12) обладает схожим характером организации сократимых мышечных элементов. Клетки имеют менее вытянутую форму, несут крупные ядра с одним ядрышком. Выстилка полости тела выражена хорошо.

Третья зона (рис. 13, 14) морфологически похожа на первую. Сократимые мышечные элементы организованы схожим образом, клетки внешне похожи. Различается характер укладки цитонов, а также характер выстилки (она кажется толще).

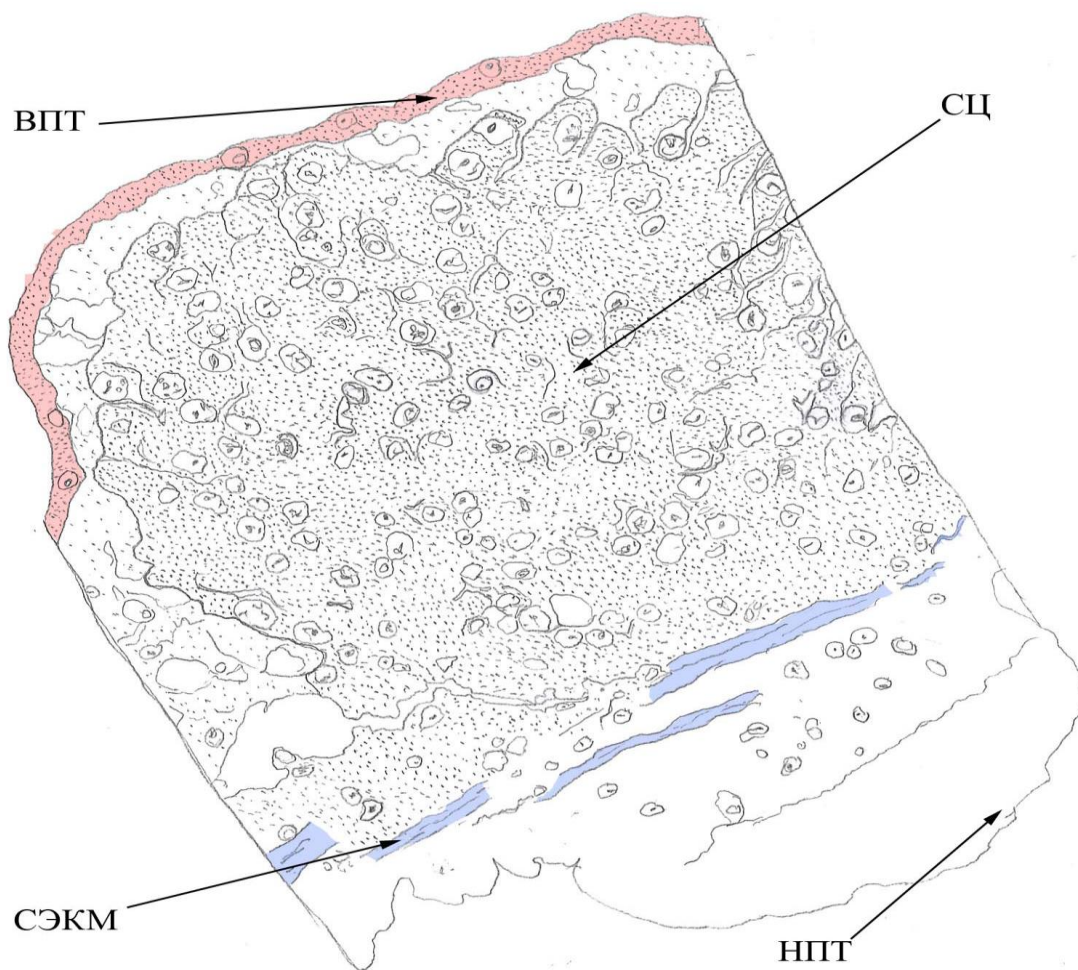


Рис.8. Схема гистологического строения ОУ.

Наряду со сложно дифференцированным центральным участком спороцисты, в других моллюсках нами были обнаружены спороцисты с иным типом строения этого компартмента (рис. 16). Обширная, сложной формы полость несёт в себе эмбрионы. Стенка тела на всём протяжении устроена более-менее одинаково и образована похожими друг на друга цитонами, отграниченными от полости тела «выстилкой», сформированной сильно вакуолизированными уплощёнными клетками. Клеточные тела обладают вытянутой формой, несут крупные ядра, часто — с несколькими ядрышками (рис. 15). Но ничего, похожего на участок №1, нами обнаружено не было.

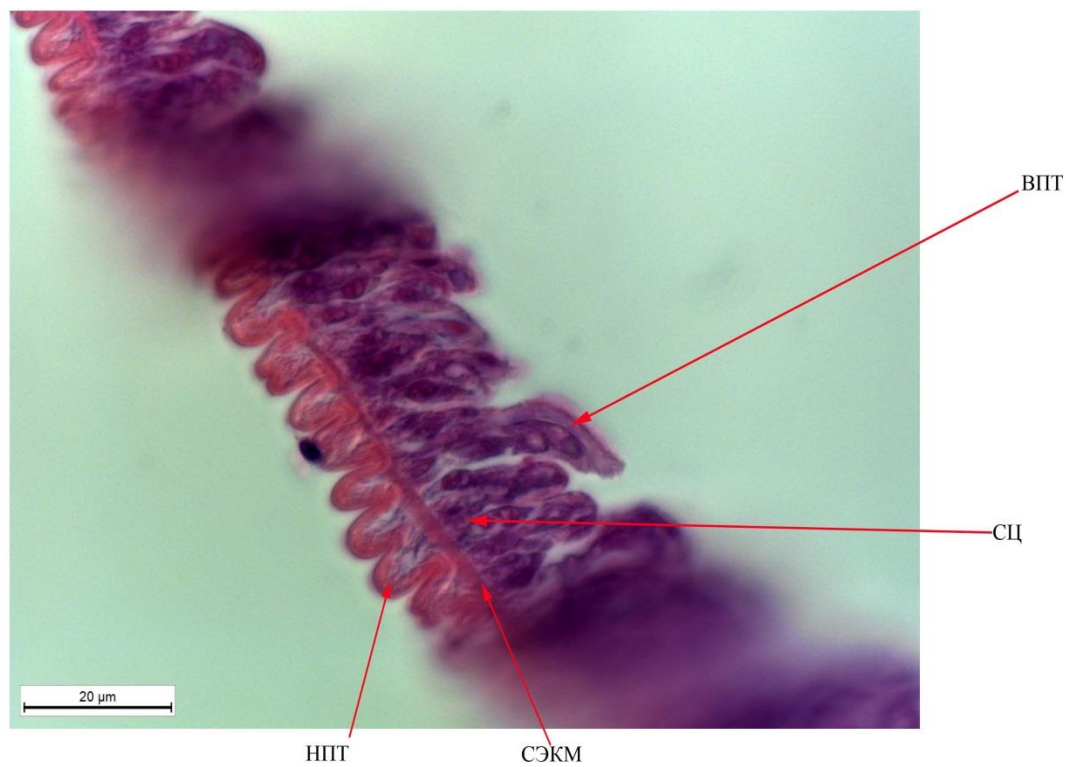


Рис.9. Первая зона участка №2.

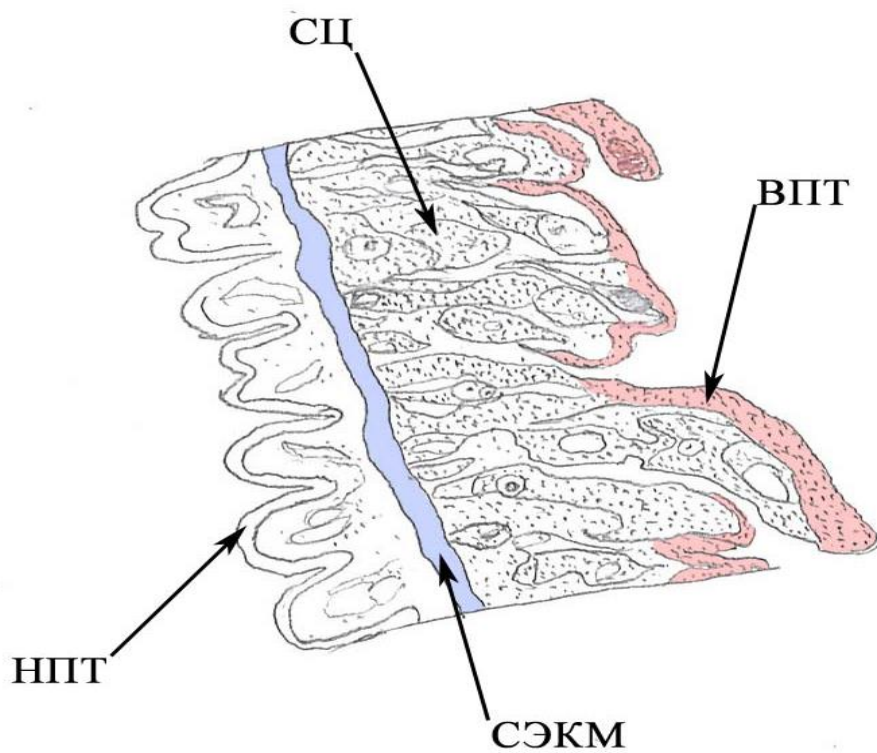


Рис. 10. Схема гистологического строения первой зоны.

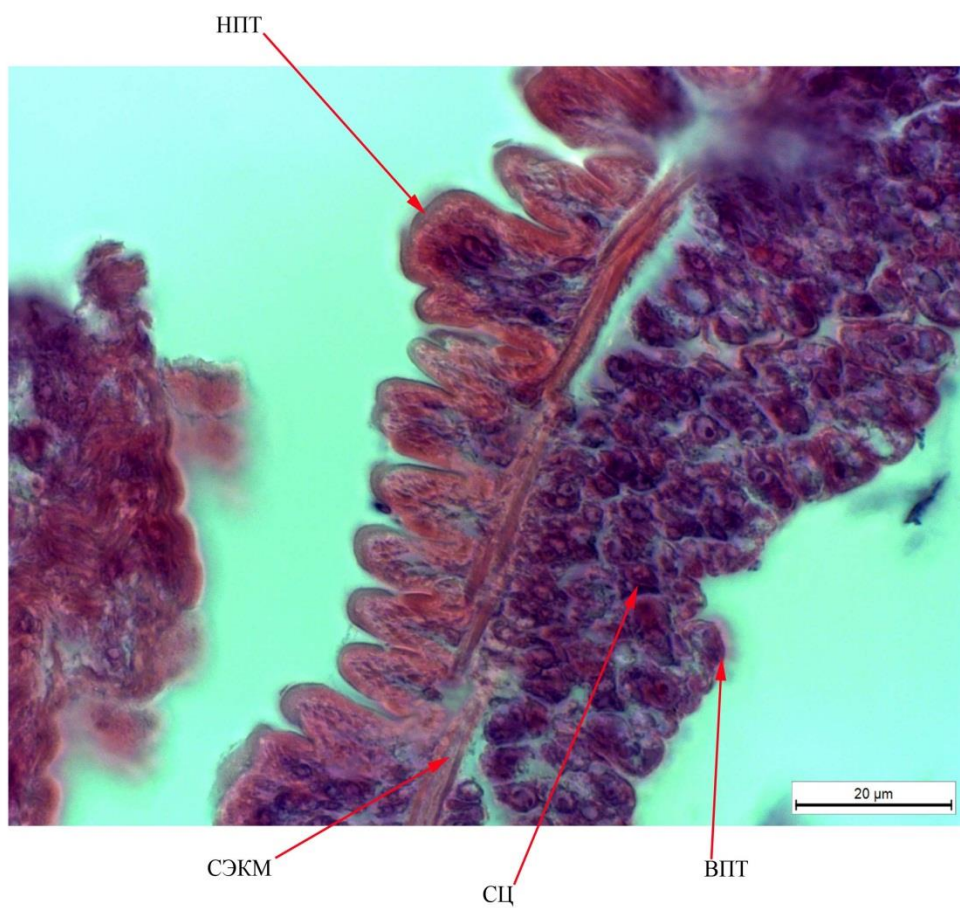


Рис.11.Вторая зона участка №2.

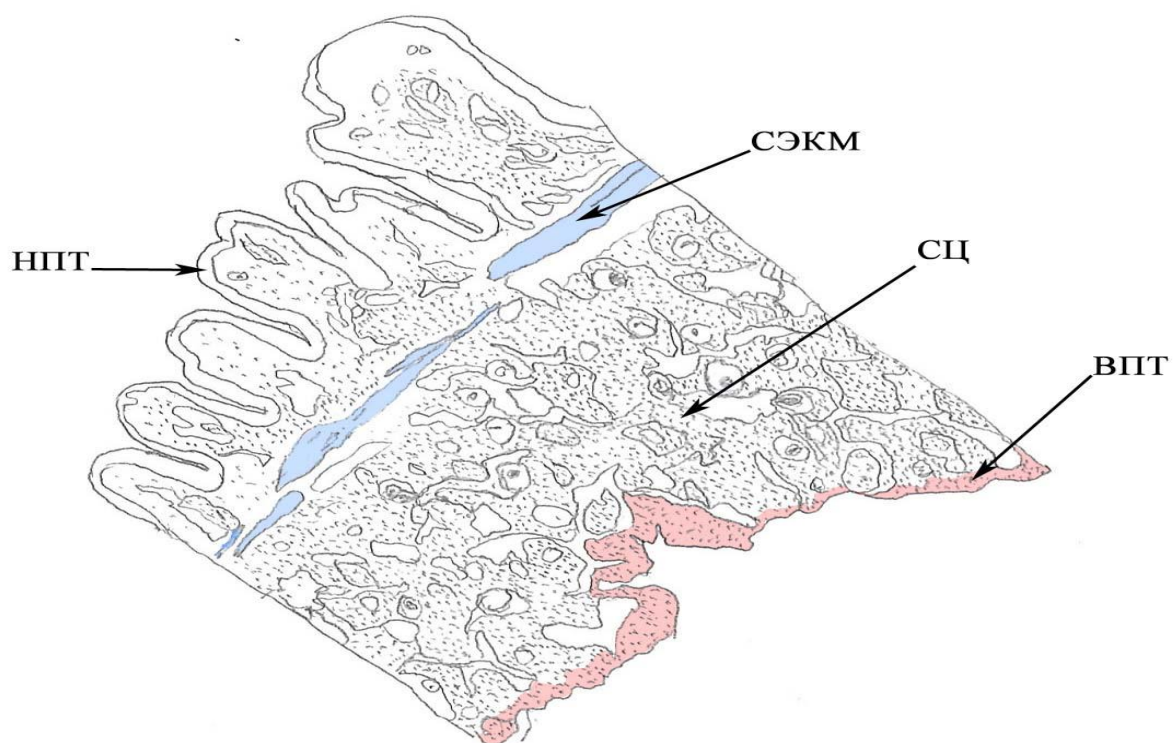


Рис.12. Схема гистологического строения второй зоны.

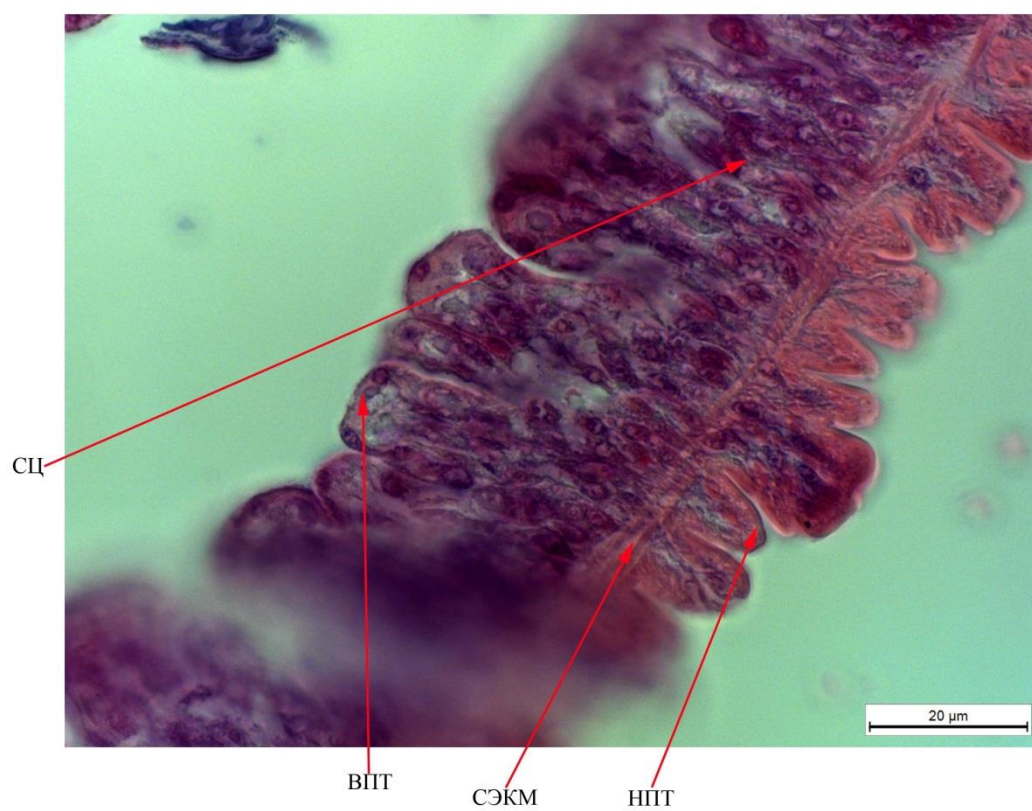


Рис.13. Третья зона участка №2.

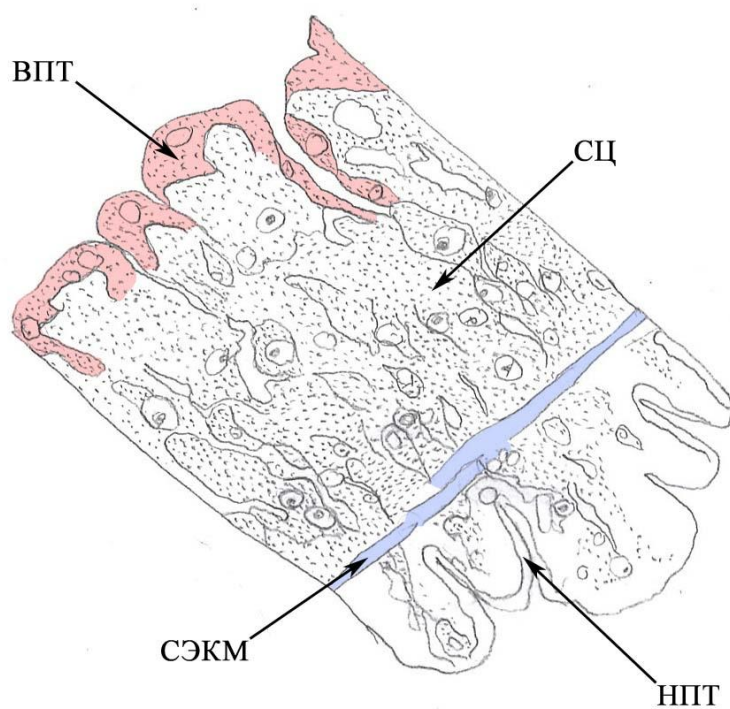


Рис.14. Схема гистологического строения третьей зоны.

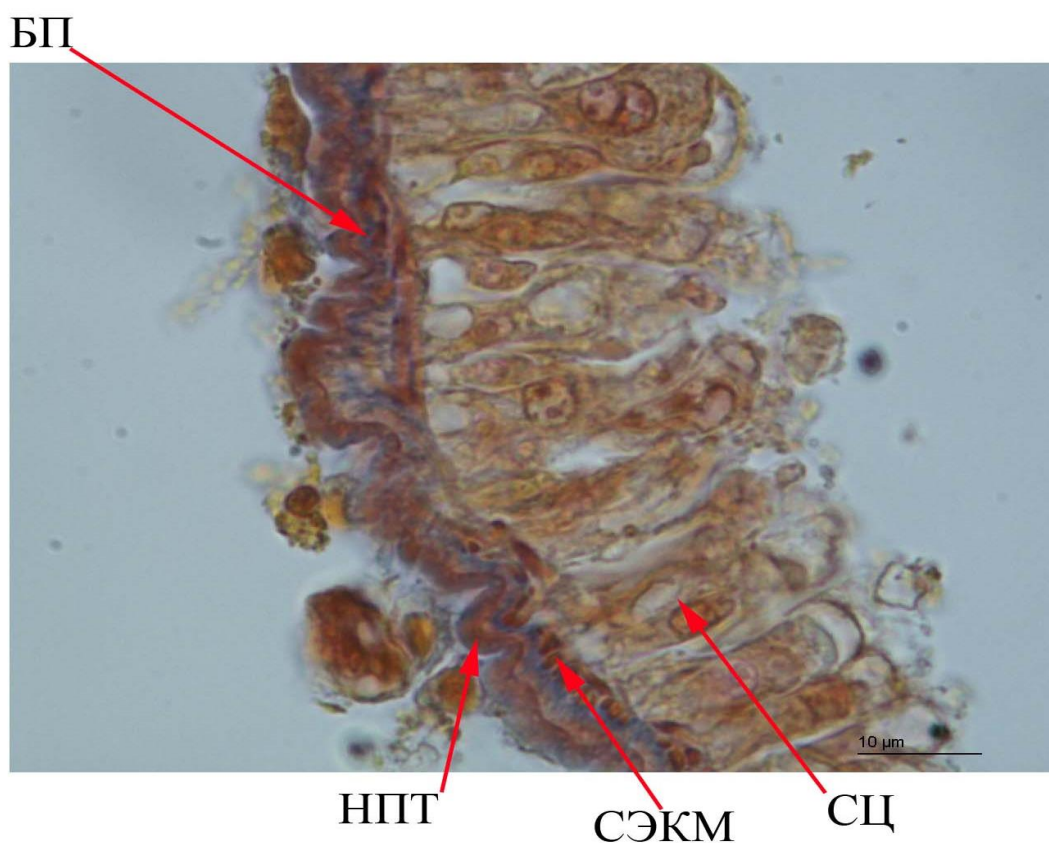


Рис.15. Фрагмент стенки центрального участка, окрашенный по Маллори.

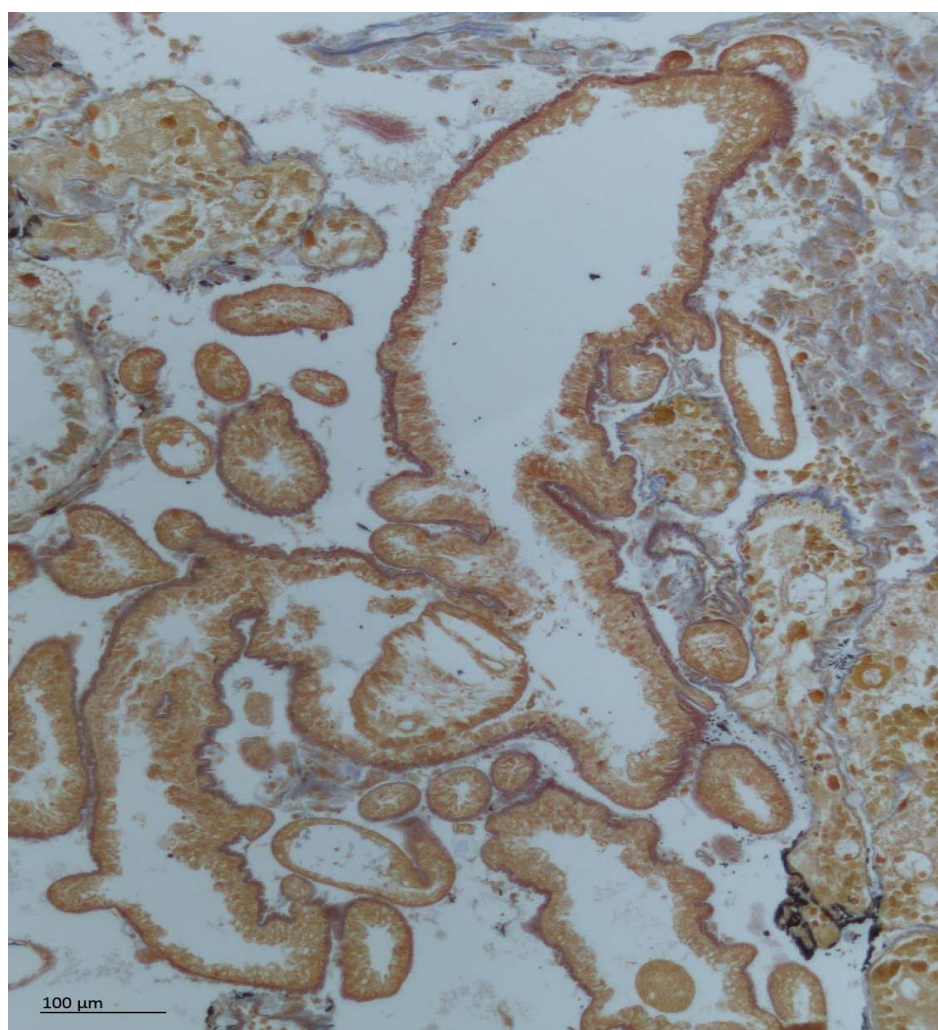


Рис.16. Поперечный срез через центральный отдел, окрашенный по Маллори

Периферические отростки

Центральный столон спороцисты формирует множество выростов, радиально расходящихся и пронизывающих печень моллюска. Такие выросты мы называем периферическими отростками. Для них, как это было указано ранее, характерно дополнительное ветвление с образованием отростков 2 и 3 порядков.

На основании полученных данных можно выделить, как минимум, два морфологически различающихся варианта устройства этих отростков (рис. 15).

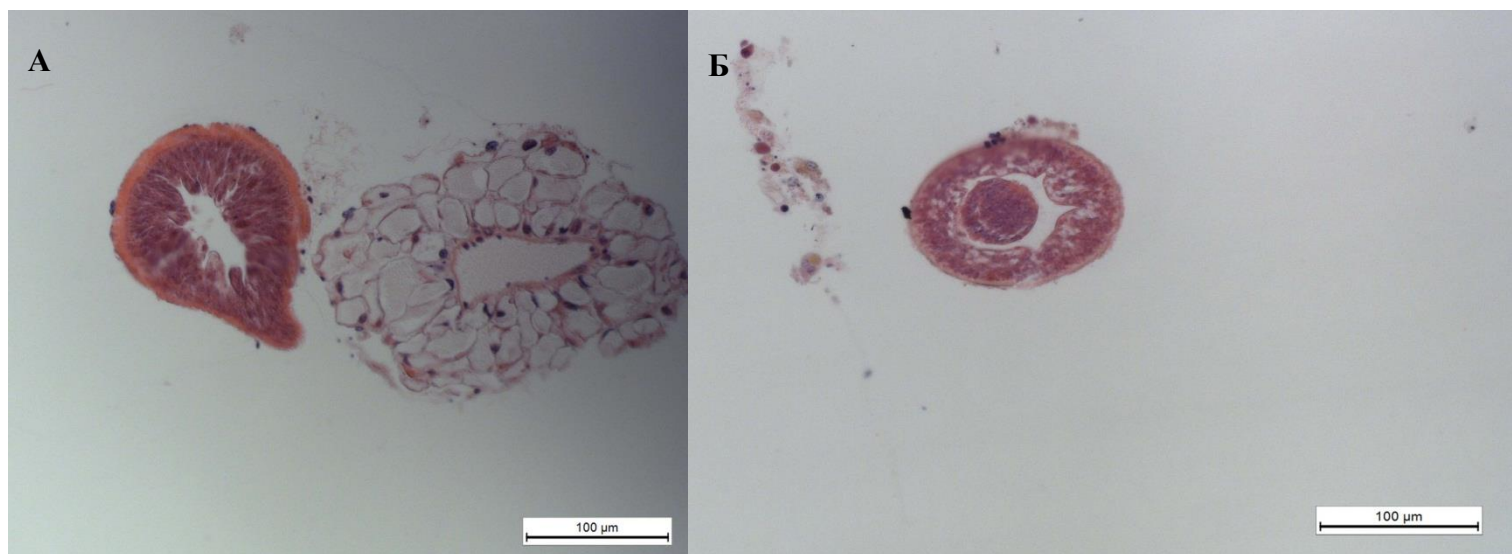


Рис.15. Поперечные срезы через периферические отростки спороцисты.

А – трофический отросток, Б – «герминативный» отросток.

Первый тип, выделенный нами, встречается наиболее часто (рис. 16—18). Такие отростки обладают хорошо развитой стенкой тела.

Цитоплазматическая пластинка тегумента образует множество мощных складок. Сократимые мышечные элементы, расположенные под ней, отчётливо выражены. Хорошо заметны волокна продольной мускулатуры, в большом количестве залегающие под кольцевыми мышцами, которые также ясно видны на фотографиях. На поверхности синцитиальной пластинки располагаются сильно распластанные по ней амебоциты хозяина, формирующие мантию. Клеточный слой обладает значительной толщиной. Небольшой диаметр отростка почти полностью занят крупными цитонами, границы которых отчётливо видны на гистологических препаратах. Тела клеток уложены неплотно, между ними заметны щелевидные пространства. Клетки обладают каплевидной или веретеновидной формой. Ядра встречаются часто. Они округлые, с одним ядрышком, мелкие (впрочем, изредка попадались и увеличенные ядра). В некоторых участках стенки тела они располагаются группами,

создавая видимость многоядерности. Полость тела выражена слабо, но, тем не менее, обладает хорошо заметной выстилкой, образованной вытянутыми уплощёнными клетками.

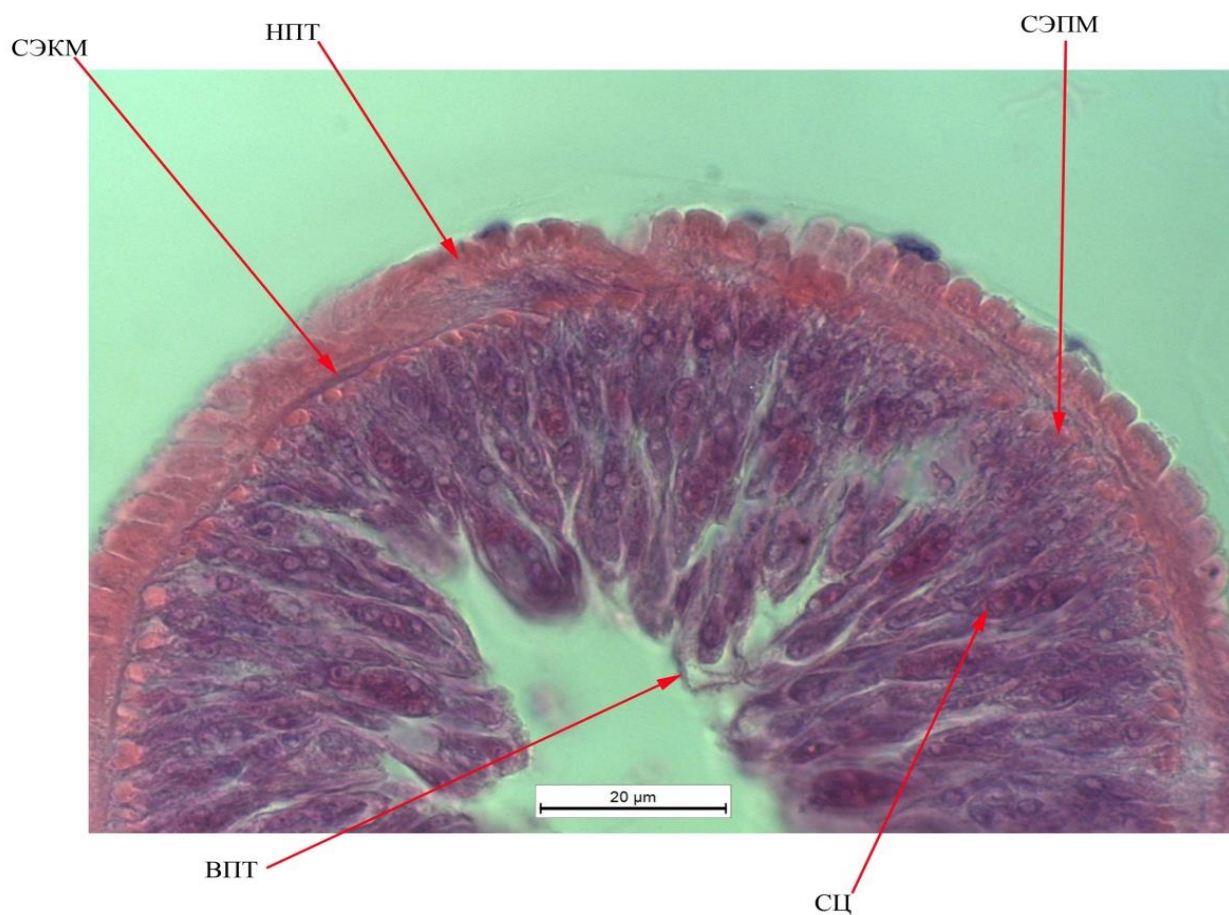


Рис.16. Фрагмент трофического отростка спороцисты.

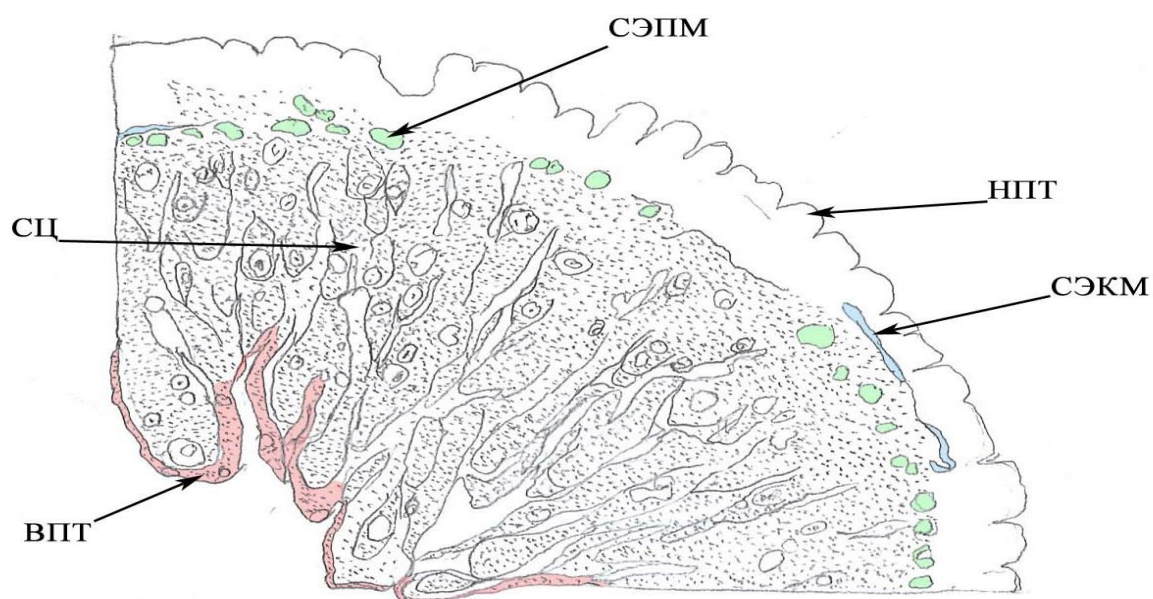


Рис.17. Схема гистологического строения трофического отростка.

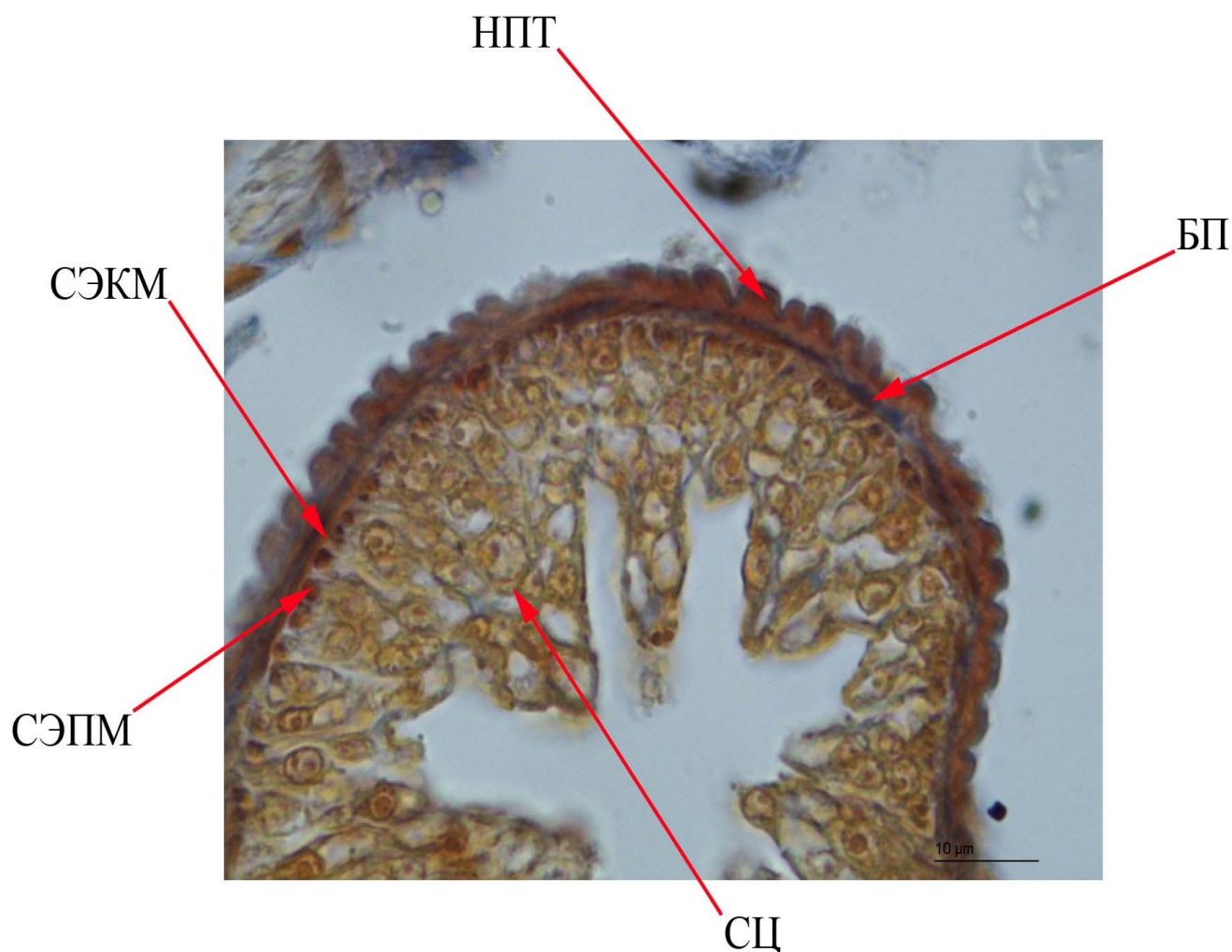


Рис.18. Фрагмент трофического отростка, окрашенный по Маллори.

Второй тип отростков, выделенный нами, значительно отличается от первого (рис. 19—21). Стенка тела имеет меньшую толщину и обладает совершенно иным типом организации. Мышечные элементы на срезах обнаружить не удалось (что, однако, скорее всего, говорит не об отсутствии мышечных элементов, а о плохом качестве срезов). Толщина клеточного слоя, по сравнению с отростками первого типа, уменьшена. Границы клеток различимы значительно хуже, сами клетки характеризуются меньшим размером. Ядра мелкие, округлые, с одним ядрышком, встречаются реже, чем в отростке первого типа, и не собираются в «группы». Ближе к внутренней границе слоя цитонов располагается большое количество крупных вакуолей. Полость тела обширная, обладает хорошо заметной выстилкой, образованной уплощёнными вытянутыми клетками. Отличительной особенностью этого типа отростков является то, что в них нам удалось обнаружить эмбрионы, что, возможно, свидетельствует о герминативной функции таких отростков.

Рис.19. Фрагмент «герминативного» отростка спорцисты.

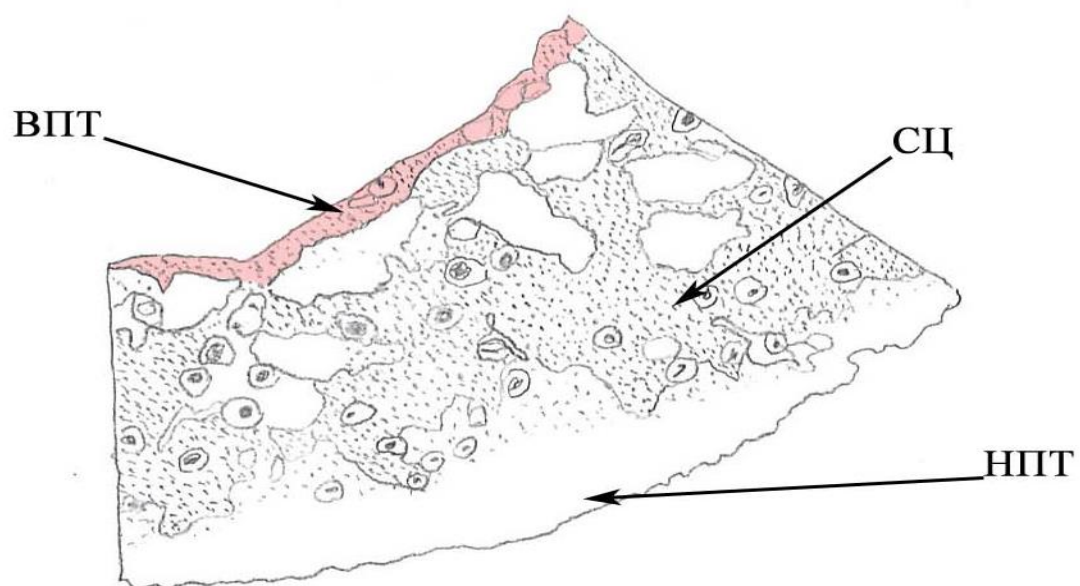
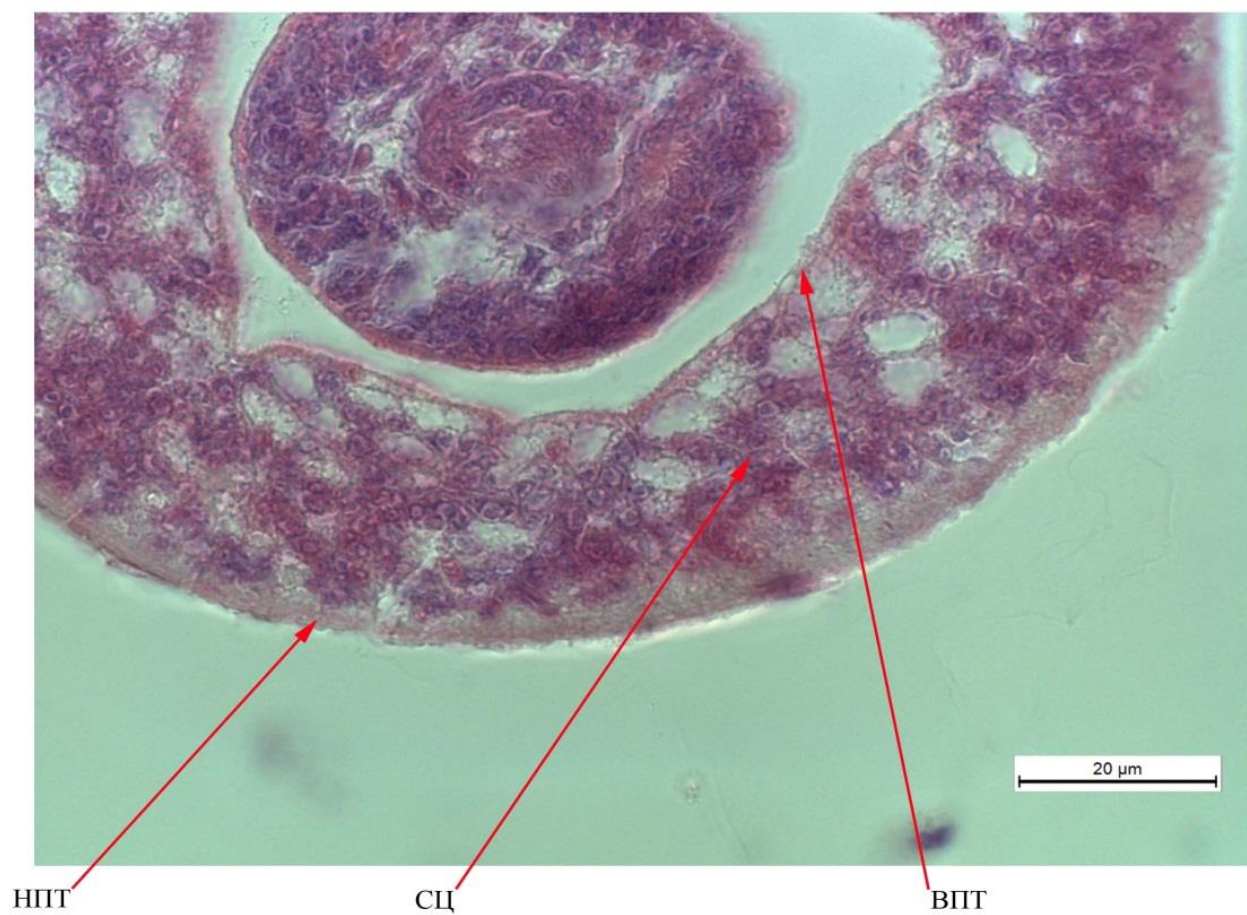
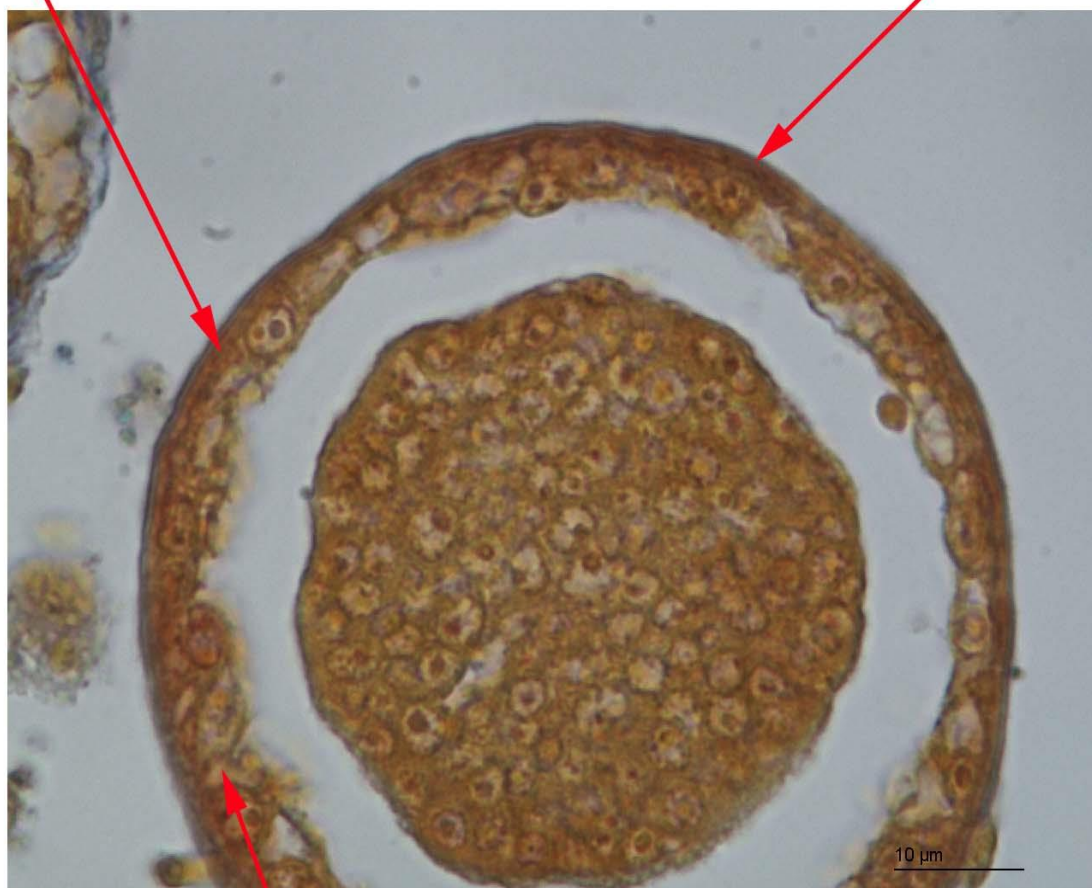


Рис.20. Схема гистологического строения «герминативного» отростка.

СЭКМ

НПТ



СЦ

Рис.21. Фрагмент «герминативного» отростка спороцисты, окрашенный по Маллори.

Трубковидные участки

Трубковидными именуются участки, соединяющие центральный узел спороцисты с выводковыми камерами, проникающими в щупальца моллюска и привлекающими окончательного хозяина (рис. 22). Их устройство в известной степени отличается от устройства остальных компартментов (23—25). Стенка тела трубки тонкая, при этом сама трубка имеет значительный диаметр. Цитоплазматическая пластинка тегумента, также имеющая незначительную толщину, не образует складок, в отличие от других отделов тела спороцисты. На поверхности покровов, контактирующей с внешней средой, встречаются уплощённые клетки неправильной формы, которые, скорее всего, являются амебоцитами моллюска и формируют мантию. Под пластинкой залегают мышечные элементы. Кнаружи обнаруживается хорошо заметный слой кольцевых мышц, конутри от которого располагаются относительно часто расположенные пучки продольных мышц. Слой цитонов тегумента довольно тонкий. Границы клеточных тел на гистологических препаратах удаётся обнаружить с трудом, что, вероятно, говорит об их плотной укладке. Мелкие, содержащие,

как правило, одно ядрышко ядра беспорядочно распределены по клеточному слою. Иногда обнаруживались вакуоли, что в той или иной степени характерно для всех участков тела партениты. Сторона, обращённая в полость тела спороцисты, выстлана отчётливо заметными клетками веретеновидной формы.

Полость тела выражена хорошо, в ней часто встречаются метацеркарии.



Рис.22. Поперечный срез через трубковидный участок.

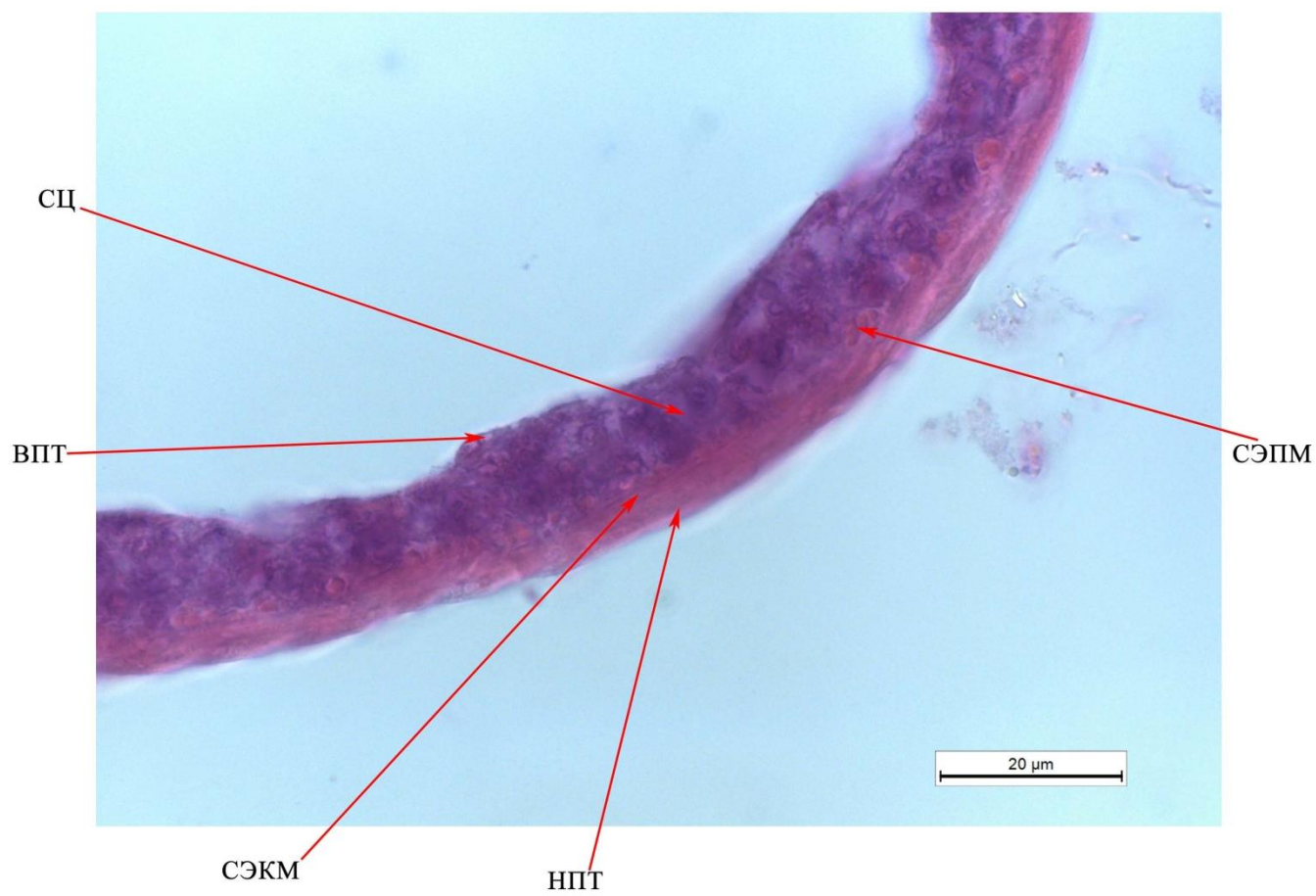
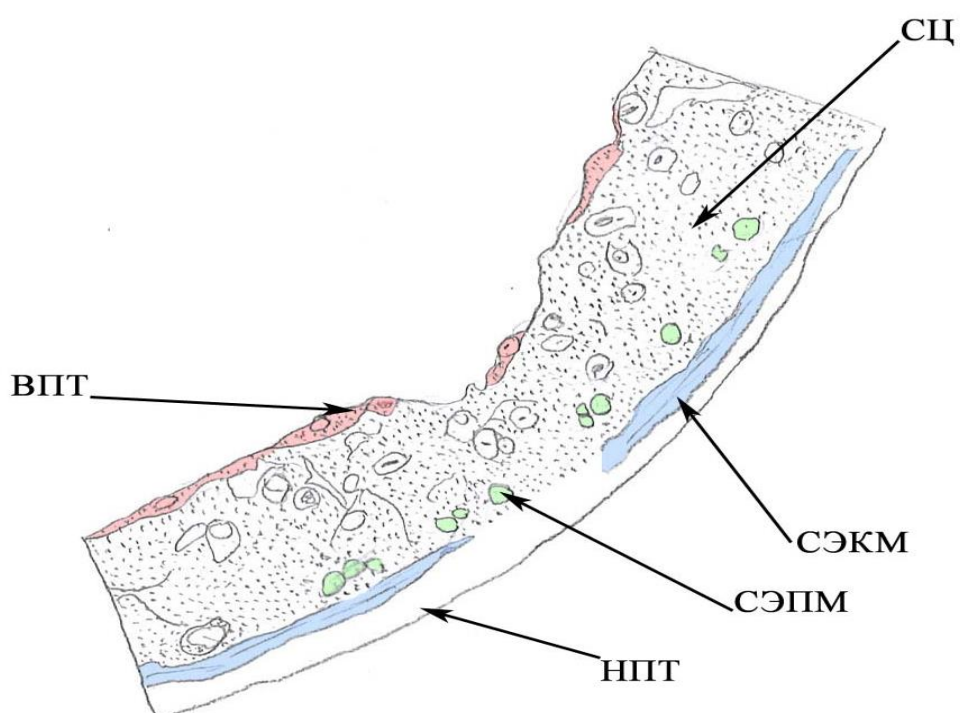


Рис.23. Фрагмент стенки трубковидного участка.

Рис.24. Схема гистологического строения трубковидного участка.



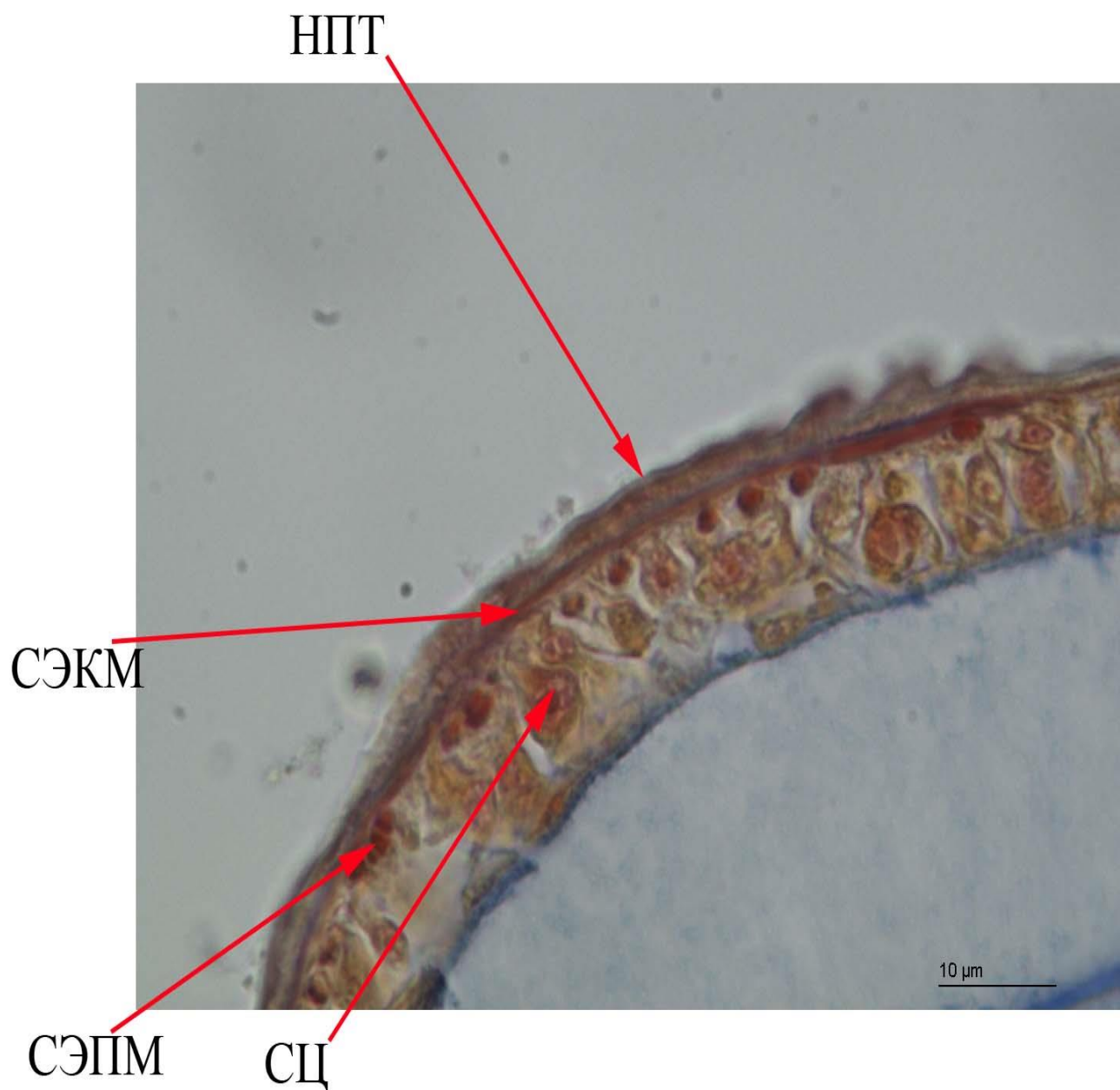


Рис.25. Фрагмент стенки трубковидного участка, окрашенный по Маллори.

Выводковые камеры

Выводковыми камерами называются крупные концевые участки тела спороцисты, накапливающие в себе метацеркарий (рис. 26). Строение их стенки тела резко отличается от строения остальных компартментов. В дистальных участках выводковых камер стенка тела образует утолщения, в которых, предположительно, залегают пигментные гранулы.



Рис.26. Поперечный срез через терминальный участок выводковой камеры.

В местах утолщений стенка тела характеризуется следующими особенностями (рис. 27, 28). Наружная пластинка тегумента утолщается и образует складки. Залегающие под ней кольцевые мышечные элементы также разрастаются, но особенно сильно разрастаются пучки продольных мышц. Главным образом, утолщение образуется за счёт гипертрофии продольных мышц и увеличения толщины наружной пластинки тегумента. Ширина слоя цитонов также увеличивается по сравнению с остальными участками стенки тела. Клетки в нём разбросаны беспорядочно, часто имеют неправильную форму, несут, как правило, не очень крупные, округлые ядра с ядрышками. От полости тела слой клеточных тел отграничен хорошо выраженной выстилкой.

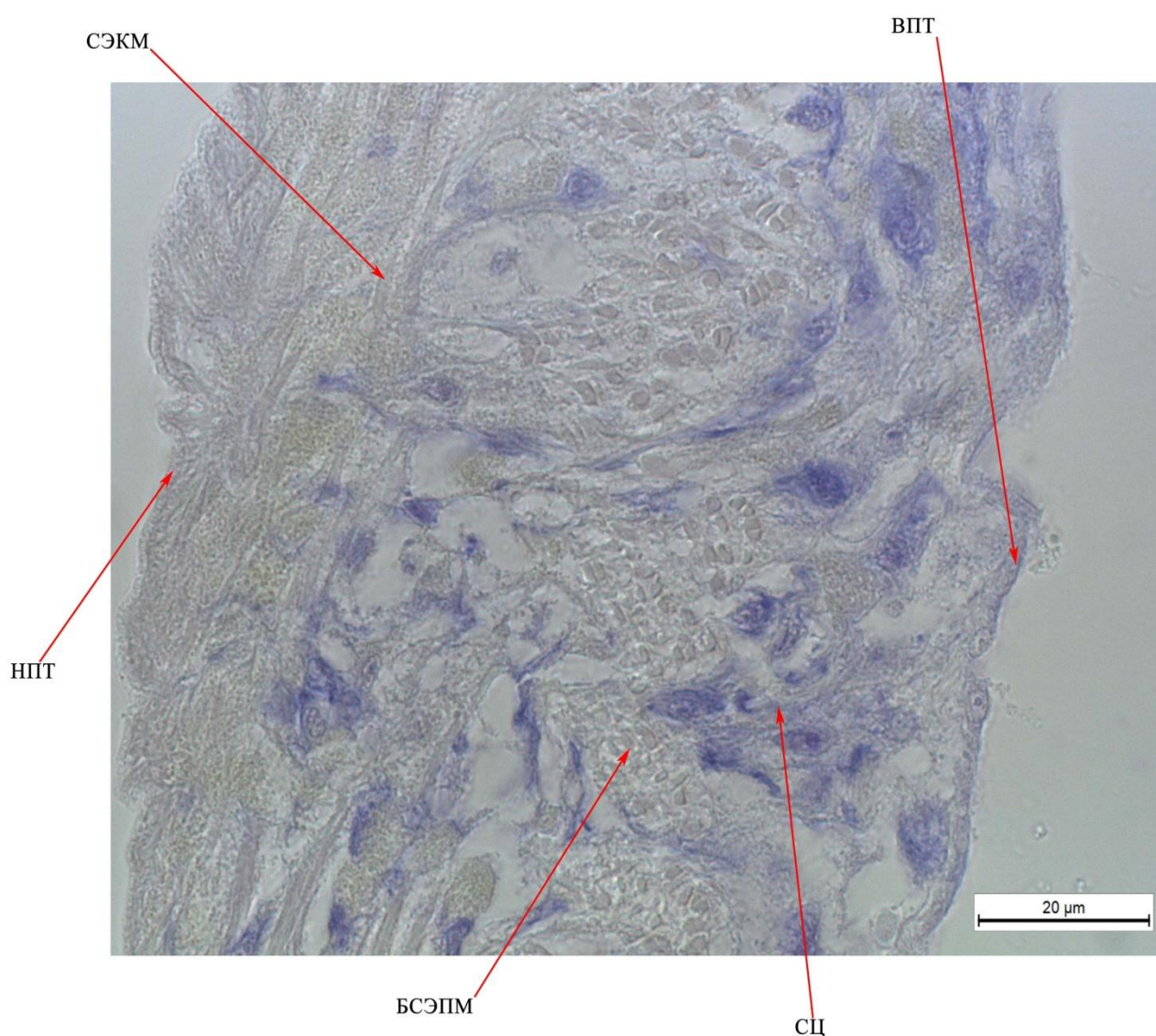


Рис.27. Фрагмент стенки выводковой камеры («утолщение»).

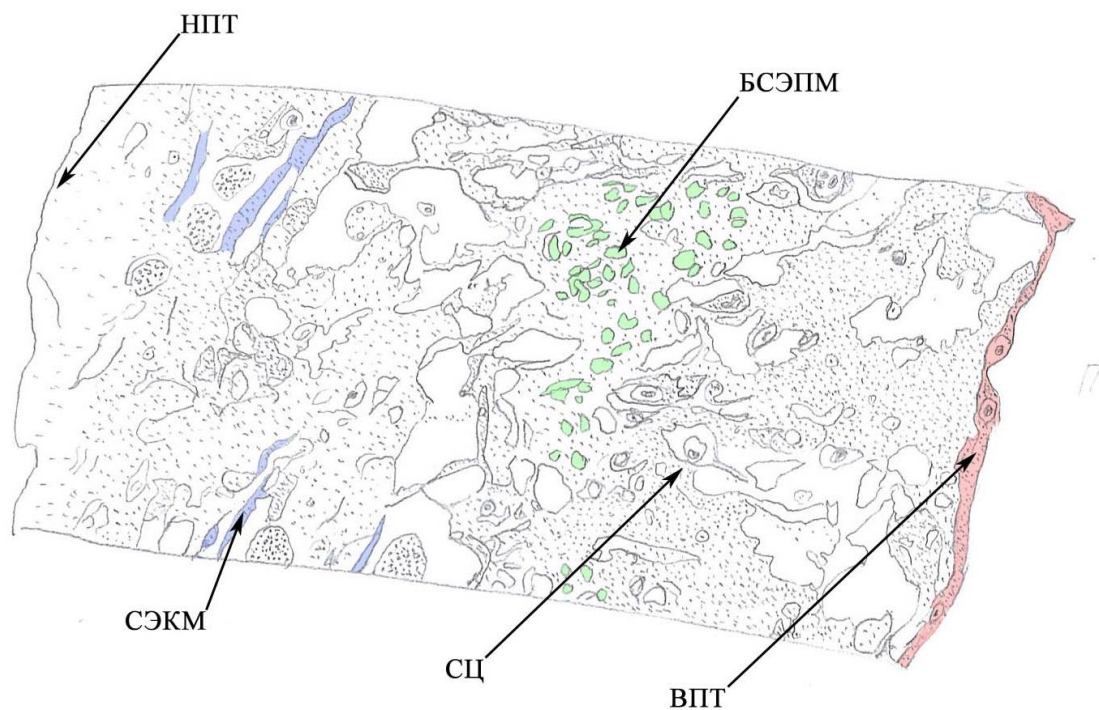


Рис.28. Схема гистологического строения стенки выводковой камеры («утолщение»).

На всём остальном протяжении стенка тела выглядит несколько иначе (29—31). Прежде всего, она имеет меньшую (в 3—4 раза) толщину, чем в местах утолщений. Наружная пластинка тегумента довольно тонкая, не образует хорошо выраженных складок. Под ней располагается тонкий слой кольцевых мышечных элементов. Продольные мышцы здесь также развиты хорошо, хоть и не так сильно, как в утолщениях. Толщина слоя цитонов невелика. Клетки имеют неправильную форму, содержат некрупные ядра. Полость тела также имеет хорошо заметную выстилку.

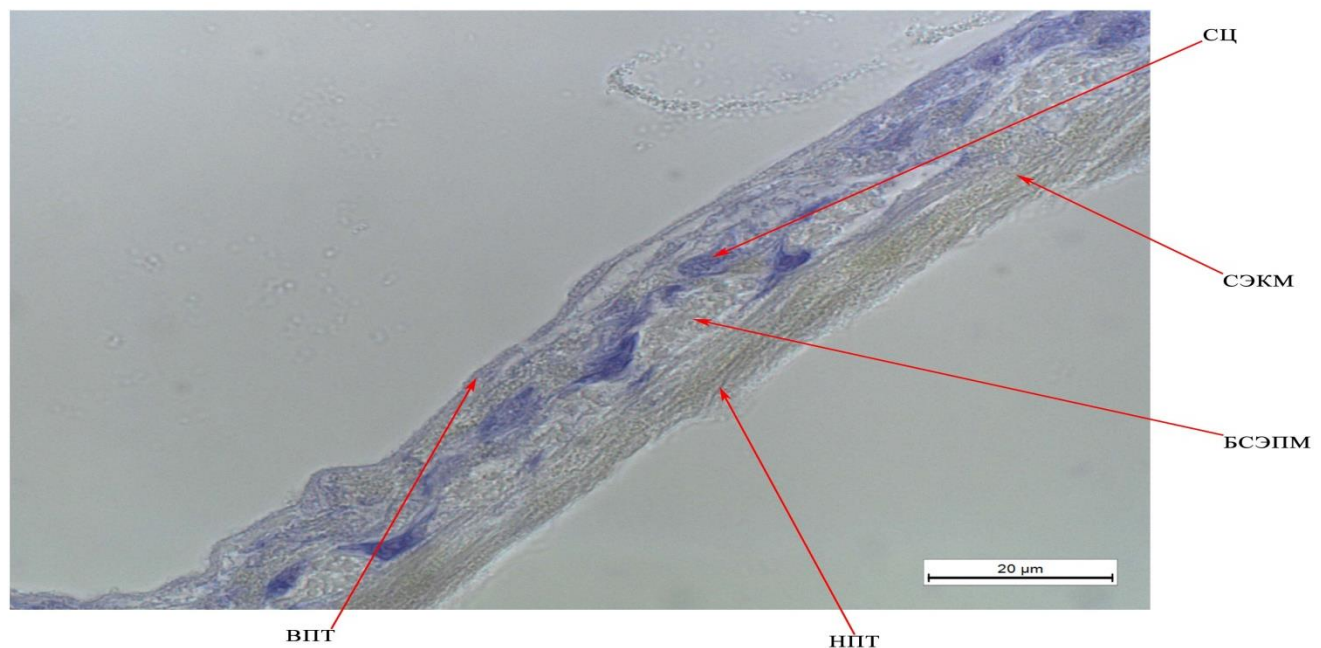


Рис.29. Фрагмент стенки тела выводковой камеры.

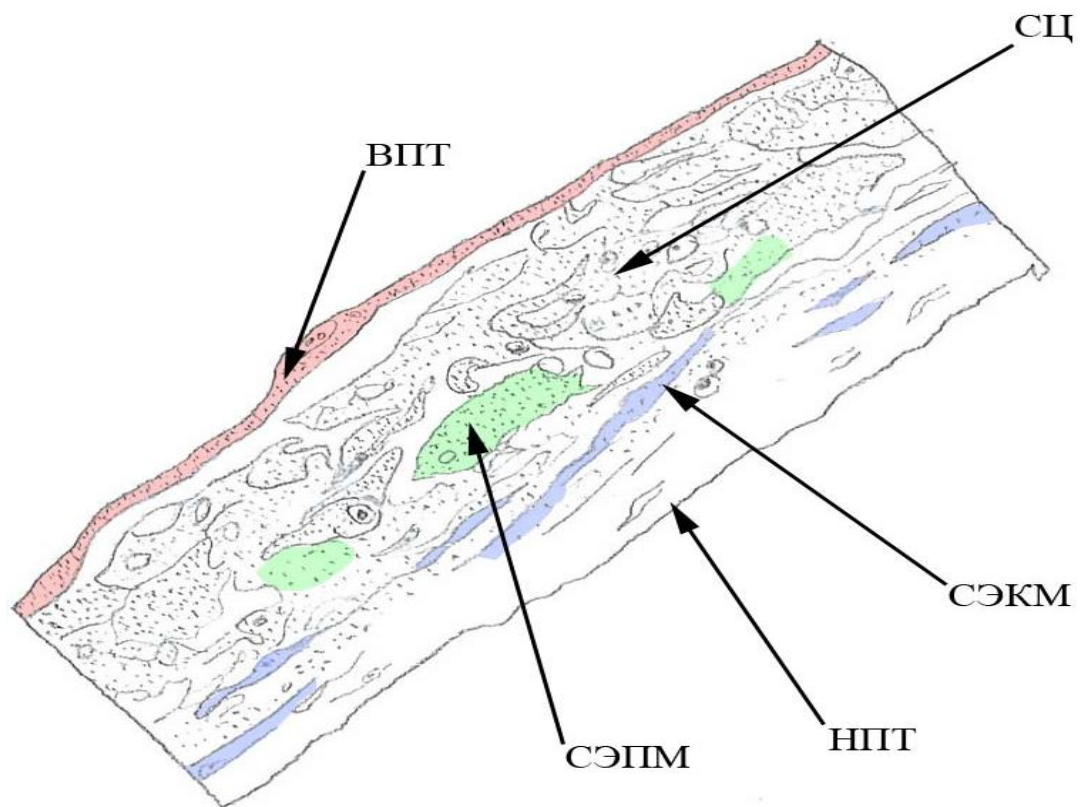


Рис.30. Схема гистологического строения стенки тела выводковой камеры.

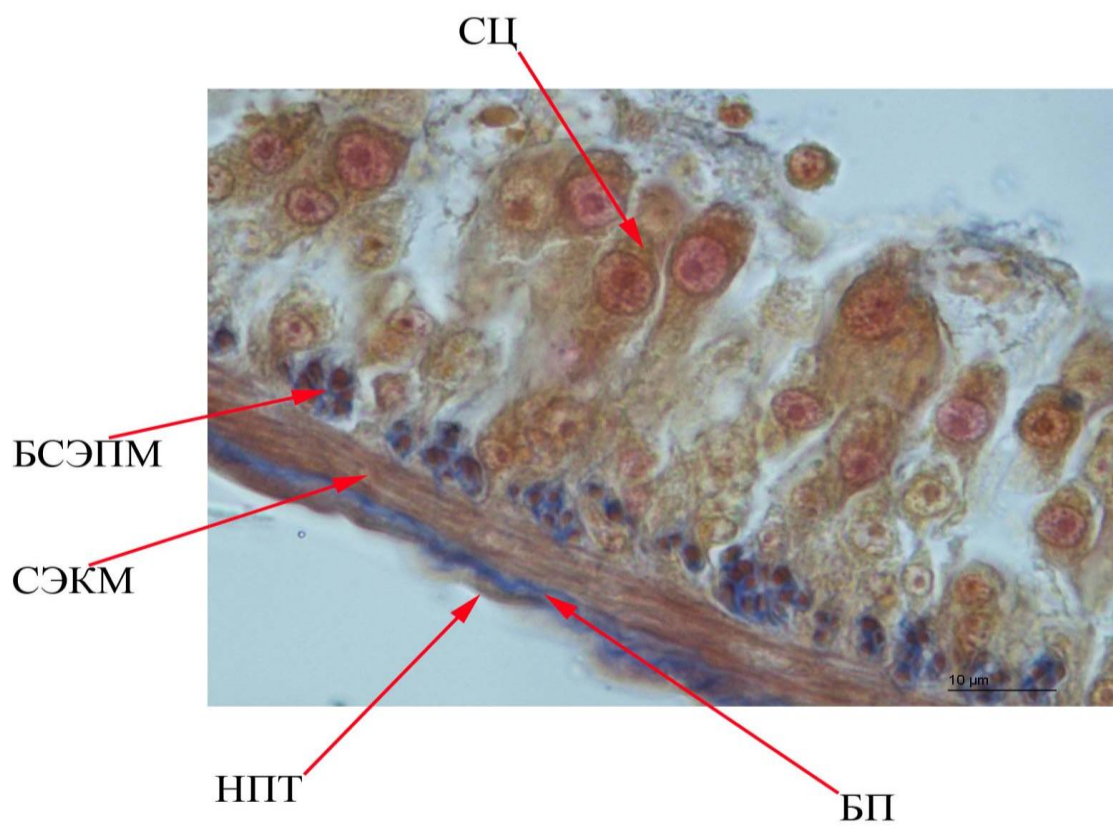


Рис.31. Фрагмент стенки выводковой камеры, окрашенный по Маллори.

Глава 4. Обсуждение

Общее строение спороцисты

Данные по внешнему строению спороцисты, в общем, соответствуют результатам, полученным другими авторами (Атаев и др., 2013; Rojmanska, Machaj, 1991). Отличие заключается в том, что в настоящей работе было выделено четыре участка в теле партениты, вместо «традиционных» трёх. В более ранних работах, которые были проанализированы, авторы не разграничивали центральный участок и периферические отростки, объединяя их под терминами «центральный столон», «central body» и т.д. По нашему мнению, это не совсем правильно, учитывая известную разницу в строении стенки тела упомянутых отделов и предполагаемую разницу в функциональной нагрузке.

Некоторые авторы (Honer, 1960), впрочем, придерживались иных взглядов на внешнюю морфологию спороцисты *L. paradoxum*, считая выводковые камеры отдельными партенитами. Ошибочность такой трактовки была показана ранее (см. Обзор литературы).

Центральный участок

В настоящей работе удалось обнаружить уникальную структуру, которая никогда ранее не была описана – участок №1. Функциональное назначение этого компартмента (который, предположительно, является центральным участком) остаётся под вопросом. Также не удаётся интерпретировать и описанные гистологические особенности этого отдела тела. Литературные данные свидетельствуют о том, что в данном участке протекают основные процессы размножения паразита. Результаты, которые удалось получить, не могут подтвердить или опровергнуть это утверждение, поскольку весь материал характеризовался полным отсутствием герминальных масс и почти полным отсутствием эмбрионов. Вероятно, это связано с тем, что моллюски, содержащие в себе партенит, были собраны осенью, в достаточно холодный период, и дефинитивные хозяева собирались уходить в спячку. Скорее всего, процессы размножения паразита на этот период останавливаются, что довольно логично и может объяснить отсутствие зародышевого материала.

Данные по строению стенки тела в некоторых деталях соответствуют литературным данным (насколько можно судить, сравнивая гистологические и электронно-микроскопические результаты). На полученных срезах заметна слабая выраженность сократимых мышечных элементов, что, в общем, соответствует данным Пойманской и Махайи (Rojmanska, Machaj, 1991). На гистологических препаратах не были видны микровилли или слой гликокаликса, паракристаллические включения, какие-либо клеточные

органеллы (за исключением, разве что, ядер) или цитоскелетные элементы. Также не удалось обнаружить мантию (хотя она и встречалась в других участках тела спороцисты). Хорошо заметна складчатость наружной пластинки тегумента, что некоторыми авторами трактуется как признак дегенерации спороцисты (Атаев, Токмакова, 2013). Однако существует иная точка зрения, согласно которой складки тегумента (не только в центральном, но и в остальных участках) – всего лишь «запас» площади поверхности, и они растянутся при заполнении спороцисты метацеркариями и эмбрионами (Добровольский А.А., личное сообщение).

Периферические отростки

Как уже было сказано ранее, такой компартмент прежде не обособлялся исследователями. В настоящей работе получилось выделить два гистологически различающихся типа отростков. При этом следует отметить, что их многообразие этим, скорее всего, не ограничивается.

Отростки первого типа встречаются наиболее часто и, по нашим предположениям, несут трофическую функцию. Стоит упомянуть тот факт, что некоторые авторы (Pojmanska, Machaj, 1991) полагают, что питание, на самом деле, осуществляется всей поверхностью спороцисты во всех компартментах. Различается лишь интенсивность поглощения питательных веществ. Обосновывают своё утверждение исследователи тем, что микровилли встречаются на протяжении всей стенки тела, но детали их организации различаются в разных отделах. Таким образом, если это предположение верно, то возникают сомнения в целесообразности выделения трофического типа отростков. С другой стороны, можно предположить, что они в наибольшей степени поглощают питательные вещества и являются основными «пищедобывающими» участками. Тогда остальные компартменты будут лишь отчасти выполнять эту функцию. Интересен тот факт, что, по данным тех же авторов, микровилли наименее многочисленны в центральном участке. Исследователи объясняют это избытком питательных веществ в окружающей среде (в гепатопанкреасе моллюска), а также высокой проницаемостью стенки тела в этом компартменте (ввиду слабой развитости мышц и фибриллярного слоя). Наконец, высокая степень разветвлённости (т.е. большое количество отростков) обеспечивает выгодное соотношение площади поверхности к объёму центрального участка (данная величина здесь больше, чем в других отделах тела партениты).

Второй тип отростков был выделен по двум причинам. Во-первых, детали их гистологического строения сильно отличаются от таковых у выростов трофического типа, и эти различия нельзя списать на какую-либо вариабельность. Во-вторых, в таких отростках

были найдены эмбрионы. Эта находка позволяет предположить, пусть и с большой осторожностью, наличие у таких отростков герминативной функции.

Трубковидные участки

Полученные в данной работе результаты вполне согласуются с литературными данными, несмотря на то, что нам не удалось обнаружить многие описанные структуры (Rojmanska, Machaj, 1991). На гистологическом уровне не обнаруживались ни микровилли, ни впячивания внутренней границы синцитиальной пластинки тегумента, ни гликокаликс, ни фибриллярный слой, ни клеточные органеллы. Полученная про сократимые мышечные элементы информация не противоречит литературным данным – оба слоя (как кольцевой, так и сократимый) хорошо заметны. Кольцевые отростки мышечных клеток, как удалось обнаружить, располагаются несколько под углом к поверхности тела, что, вероятно, связано со способностью трубковидных участков резко сокращаться и сворачиваться в спираль, способствуя выходу выводковых камер из глазных щупалец моллюска. Описание такого механизма также встречается в литературе (Атаев, Токмакова, 2013).

В работе Пойманской и Махайи (Rojmanska, Machaj, 1991) также описывались пигментные гранулы, залегающие между слоем цитонов и сократимыми мышечными элементами. Ничего похожего нам обнаружить не удалось.

Выводковые камеры

Как и в остальных случаях, на гистологических срезах не удалось обнаружить некоторые детали, которые смогли найти исследователи на электронно-микроскопических фотографиях. Из всех перечисленных выше особенностей (см. Обзор литературы) получилось найти достаточно немного.

Подтвердились данные Атаева с соавторами (Ataev et al., 2013), которые свидетельствовали о наличии утолщений в дистальных участках стенки тела выводковых камер. Утолщения образованы не только разрастанием тегумента, но и мощной гипертрофией продольных мышечных элементов, которые здесь собраны в блоки.

Немалая часть исследований посвящена пигментации спороцисты (Начева, 1981; Zdarska et al., 1982; Ataev et al., 2013). К сожалению, в настоящей работе этому не было уделено внимание, в связи с чем мы не можем каким-либо образом подтвердить или опровергнуть полученные другими авторами данные.

Сравнение с представителями близкородственных групп

К таксону Brachylaimoidea относится большое количество семейств, из которых в настоящей работе было рассмотрено только 4: Leucochloridiomorphidae, Brachilaimidae, Hasstellisiidae и Leucochloridiidae. Представители всех 4 семейств имеют ветвящиеся спороцисты, однако, детали их строения различаются.

Наиболее информативной работой по партенитам представителей семейства Leucochloridiomorphidae, пожалуй, до сих пор остаётся обзор Аллисона (Allison, 1943), посвящённый *Leucochloridiomorpha constantiae*. Автор обнаружил, что в заражённых моллюсках встречается два поколения спороцист: крупные и обильно ветвящиеся (предположительно, материнские) и мелкие неветвящиеся (или слабо ветвящиеся), которые, вероятно, являются дочерними. Первое поколение ветвится неправильно. Цвет варьирует от бледно-жёлтого до белого. Полностью сформированные участки тела, по большей части, имеют одинаковый диаметр. На их протяжении встречаются как расширяющиеся и заполненные церкариями и эмбрионами зоны, так и пустые и тонкие. Дистальные части некоторых отростков имеют меньший диаметр, чем базальная часть, просвет таких участков заполнен молодыми эмбрионами (некоторые из них встроены в стены), но никогда – церкариями. Наиболее крупные ветки имеют более широкий просвет, заполненный церкариями и эмбрионами. На концах некоторых отростков имеются родильные поры – структуры, никогда не встречающиеся у представителей рода *Leucochloridium*. Покровы вокруг них утолщены и способны к значительному растяжению. Второе поколение, в основном, представлено небольшими, бледно-белыми, неразветвлёнными спороцистами, несущими только эмбрионы. Некоторые из этих партенит ветвятся и имеют более крупные размеры, а в их просвете попадают церкарии. Спорцисты *L. constantiae* не формируют центрального отдела, или каких-либо других компартментов. Стенка тела, по описанию Аллисона, состоит из одного слоя клеток, покрытого кутикулой. Сейчас понятно, что покровы спороцисты устроены, как типичный тегумент.

Представители семейства Brachilaimidae также обладают ветвящимися спороцистами, которые представляют собой запутанную сеть из трубочек. Показано, что партениты рода *Brachylaima* разрастаются очень сильно, занимая весь гепатопанкреас окончательного хозяина (похоже, что весь его объём занят одной, сильно разросшейся особью); на всём протяжении тела паразита при этом встречаются церкарии и герминальные массы (Butcher, Grove, 2001; Щенков и др., 2016; Nakao et al., 2017). Последние, однако, собираются в

терминальных участках некоторых веточек, другие ветви, в то же время, несут родильные поры на своих концах (Sirgel et al., 2012).

Несколько иная ситуация наблюдается у представителей рода *Hasstilesia* (семейство Hasstellisiidae). По литературным данным, их спороцисты также ветвятся, но при этом отростки не образуют вторичных ответвлений. Кроме того, ветви спороцисты отходят от общего центрального основания (Rowan, 1955; Соболева, 1972), что уже начинает походить на устройство партенит у *L. paradoxum*. Отсутствуют родильные поры, церкарии развиваются в метацеркарии в пределах спороцисты (Соболева, 1972). Для *H. tricolor* и *H. ochotonaе* было показано, что стенка тела партенит обладает весьма незначительной толщиной и легко рвётся (Rowan, 1955; Соболева, 1972). У *H. tricolor* она образована одним слоем клеток, ядра которых широко разнесены (Rowan, 1955).

Среди представителей семейства Leucochloridiidae не только род *Leucochloridium* обладает ветвящимися спороцистами. Партениты рода *Urogonimus*, к примеру, также ветвятся. В литературе для *Urogonimus certhiae* (Lewis, 1974) было показано, что их спороцисты ветвятся неправильно. Диаметр ветвей варьирует, как и толщина стенки. К тому же, на них в случайном порядке располагаются тонкие, твёрдые, пальцеподобные выросты без просвета, функция которых не ясна. Внутри просвета спороцисты обнаруживаются зародышевые шары, эмбрионы и метацеркарии, которые равномерно распределены по всей полости тела. Отсутствуют родильные поры, не формируется ничего похожего на выводковые камеры *L. paradoxum*., хотя по ходу ветвей иногда встречаются расширения.

Сравнивая многообразие вариантов организации партенит в пределах таксона Brachylaimoidea, можно выстроить морфологический ряд, основанный на увеличении степени компартментализации спороцист. Наименьшая степень компартментализации (и, соответственно, высшая степень модульности) характерна для представителей семейства Leucochloridiomorphidae, спороцисты которых устроены более-менее одинаково на всём своём протяжении. Зародышевый материал равномерно распределён по всей полости тела. В чуть большей степени компартментализация выражена в семействе Brachilaimidae и у рода *Urogonimus*. Особенно это заметно у брахилаимид, веточки которых несут либо герминальные массы, либо родильные поры – появляется подобие компартментализации. Следующий шаг в направлении усиления компартментализации сделали представители семейства Hassteliidae. В их спороцистах появляется некая упорядоченность в ветвлении – отростки отходят от общего центрального основания. Наконец, завершает этот ряд род

Leucochloridium, чьи партениты образуют настоящие компартменты и, таким образом, достигают наивысших степеней компартментализации.

Краткие результаты и выводы

1) В настоящей работе было изучено гистологическое строение стенки тела спороцисты *L. paradoxum*. Полученные результаты свидетельствуют, что оно неоднородно в разных участках тела партениты.

2) На основании найденных различий был составлен общий план строения спороцисты *L. paradoxum*, который отличается от тех вариантов, что были ранее предложены другими исследователями.

3) Согласно полученным данным, в теле партениты были выделены четыре чётко обособленных отдела, которые различаются не только морфологически, но и выполняют разные функции (центральный участок, периферические отростки, трубковидные участки и выводковые камеры).

4) Полученные данные были сопоставлены с литературными данными по представителям близкородственных семейств. На основании сравнительного анализа был построен морфологический ряд, отражающий увеличение степени компартментализации тела партенит.

5) Исходя из сказанного выше, можно сделать следующий вывод. Спороцисты *L. paradoxum*, в отличие от остальных брахилаимид, в наибольшей степени теряют модульный план организации и, вместо этого, приобретают черты, свойственные унитарным организмам, то есть, в определённой степени отказываются от многократного повторения морфологических структур, заменяя их участками, отличными друг от друга и специализированными для выполнения определённых функций.

Благодарности

Данная работа была выполнена на базе Ресурсного Центра «Развитие клеточных и молекулярных технологий» СПбГУ.

Хочется выразить благодарность людям, принимавшим участие в её выполнении на разных стадиях, а именно: своему научному руководителю А.И. Грановичу, а также А.А.

Добровольскому, Г.А. Кремневу, А.А. Миролюбову и другим сотрудникам и студентам кафедры.

Список литературы

1. Allison L. N. *Leucochloridiomorpha constantiae* (Mueller) (Brachylaemidae), Its Life Cycle and Taxonomic Relationships among Digenetic Trematodes. Transactions of the American Microscopical Society, Vol. 62, No. 2 (Apr., 1943), pp.127-168.
2. Ataev G. L., Babich P. S., Tokmakova A. S. The study of the sporocyst broodsacs coloring in *Leucochloridium paradoxum* (Trematoda: Brachylaemidae) //Паразитология. 2013. Т. 47. С. 5.
3. Bakke T. A. A revision of the family Leucochloridiidae Poche (Digenea) and studies on the morphology of *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835 //Systematic Parasitology. 1980. Vol. 1. №. 3-4. P. 189-202.
4. Butcher A. R., Grove D. I. Description of the life-cycle stages of *Brachylaima cribbi* n. sp. (Digenea: Brachylaimidae) derived from eggs recovered from human faeces in Australia. Systematic Parasitology, 49, 211–221, 2001.
5. Czubaj A., Niewiadomska K. Types of sensory cells in *Notocotylus attenuates* (Rud., 1809) rediae (Digenea, Notocotylidae) //Parasitology Research. 1988. Vol. 74. P. 243-249.
6. Dunn T.S., Hanna R.E.B., Nizami W.A. Ultrastructural and histochemical observations on the epidermis, presumptive tegument and glands of the miracidium of *Gigantocotyle explanatum* (Trematoda : Paramphistomidae). International Journal for Parasitology, Vol. 17, Issue 4, April 1987, P. 885-895.
7. Hockley D. J. 1973. Ultrastructure of the Tegument of *Schistosoma*. Advances in Parasitology, Vol. 11, 1973, P. 233-305.
8. Honer M. R. Some observations on *Leucochloridium paradoxum* (= *macrostomum*) Rud. 1802, from the Snail *Succinea putris* L //Basteria. 1960. Vol. 24. №. 4/5. P. 52-59.
9. Irwin S. W. B., Threadgold L. T., Howard N. M. *Cryptocotyle lingua* (Creplin) (Digenea: Heterophyidae): observations on the morphology of the redia, with special reference to the birth papilla and release of cercariae. Parasitology. 1978. Vol. 76. P. 193-199.
10. Klag J., Niewiadomska K., Czubaj A. 1997. Ultrastructural studies on the sporocyst wall of *Diplostomum pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 (Digenea, Diplostomidae). International Journal for Parasitology, Vol. 27, Issue 8, August 1997, P. 919-929.
11. Køie M. On the histochemistry and ultrastructure of the daughter sporocyst of *Cercaria buccini* Lebour, 1911. Ophelia, 1971, Vol. 9, P. 145-163.

12. Lewis Jr P. D. Helminths from terrestrial molluscs in Nebraska. III. Life cycle of *Urogonimus certhiae* (McIntosh, 1927) Kagan, 1952 (Digenea: Leucochloridiidae). The Journal of Parasitology. 1974. P. 256-259.
13. Lewis, W. Adaptations for the transmission of species of *Leucochloridium* from molluscan to avian hosts / W. Lewis, P. D. Jr // Proceedings of the Montana Academy of Sciences. 1977. V. 37. P. 70-81.
14. Meuleman E. A., Holzmann P. J., Peet R. C. The development of daughter sporocysts inside the mother sporocyst of *Schistosoma mansoni* with special reference to the ultrastructure of the body wall. Z. Parasitenkd. 1980. 61,201-212.
15. Nakao M., Waki T., Sasaki M., J. L. Anders, Koga D., Asakawa M. *Brachylaima ezohelicis* sp. nov. (Trematoda: Brachylaimidae) found from the land snail *Ezohelix gainesi*, with a note of an unidentified *Brachylaima* species in Hokkaido, Japan. Parasitology International, 66 (2017), 240–249.
16. Pan S. C. The fine structure of the miracidium of *Schistosoma mansoni*. Journal of Invertebrate Pathology, 1980, Vol.36, No.3, P. 307-372.
17. Podvyznaya I. M., Galaktionov K. V. 2011. Morpho-functional specialization of the branching sporocyst of *Proisorhynchoides borealis* Bartoli, Gibson & Bray, 2006 (Digenea, Bucephalidae). Journal of Helminthology (2012) 86, 173–184.
18. Pojmanska T., Machaj K. Differentiation of the ultrastructure of the body wall of the sporocyst of *Leucochloridium paradoxum* //International Journal for Parasitology. 1991. Vol. 21. №. 6. P. 651-659.
19. Rees F. G. Light and electron microscope studies of the rediae of *Parorchis acanthus* Nicoll. Parasitology, 1966, Vol. 56, №3, p. 589-602.
20. Rees F. G. The ultrastructure of the epidermis of the redia of *Parorchis acanthus* Nicoll (Digenea; Philophthalmidae) //Zeitschrift für Parasitenkunde. 1981. Bd. 65. S. 19-30.
21. Rowan W. B. The Life Cycle and Epizootiology of the Rabbit Trematode, *Hasstilesia tricolor* (Stiles and Hassall, 1894) Hall, 1916 (Trematoda: Brachylaemidae). Transactions of the American Microscopical Society, Vol. 74, No. 1 (Jan., 1955), pp. 1-21.
22. Sirgel W. F., Artigas P., Bargues M. D. and Mas-Coma S. Life cycle of *Renylaima capensis*, a brachylaimid trematode of shrews and slugs in South Africa: two-host and three-host transmission modalities suggested by epizootiology and DNA sequencing. Parasites & Vectors, 2012, Vol. 5, №1, P. 169.
23. Smith J. H., Chernin E. Ultrastructure of young mother and daughter sporocysts of *Schistosoma mansoni*. The Journal of Parasitology, 1974, Vol. 60, №1, P.85-89.

24. Southgate V. R. Observations on the epidermis of the miracidium and on the formation of the tegument of the sporocyst of *Fasciola hepatica*. Parasitology, 1970, 61, 177-190.
25. Storch V., Welsch U. Der Bau der Körperwand von *Leucochloridium paradoxum* (The fine structure of the body wall of *Leucochloridium paradoxum*) //Zeitschrift für Parasitenkunde. 1970. Vol. 35. №. 1. P. 67-75.
26. Uglem G. L., Lee K. L. *Proterometra macrostoma* (Trematoda: Azygiidae): Functional morphology of the tegument of the redia. International Journal for Parasitology Vol. 15, Issue 1, February 1985, P. 61-64.
27. Wesenberg-Lund C. Contributions to the Development of the Trematoda Digenea: The Biology of *Leucochloridium paradoxum*. – Levin & Munksgaard, 1931.
28. Woodhead A. E. The mother sporocysts of *Leucochloridium* //The Journal of Parasitology. 1935. Vol. 21. №. 5. P. 337-346.
29. Zdarska Z., Soboleva T. N. Ultrastructure of the metacercaria and sporocyst sac of *Leucochloridium perturbatum* Pojmanska, 1969 //Folia Parasitol. 1984. Vol. 31. P. 133-139.
30. Zdarska Z., Soboleva T. N., Osipovskaya L. L. Ultrastructure of the tegument and associated structures of *Leucochloridium paradoxum* sporocyst and metacercaria //Folia Parasitol. 1982. Vol. 29. P. 247-251.
31. Атаев Г. Л., Добровольский А. А., Токмакова А. С. Размножение партенит трематод *Leucochloridium paradoxum* (Trematoda: Leucochloridiidae) //Паразитология. 2013. Т. 47. №. 2. С. 178-182.
32. Атаев Г. Л., Токмакова А. С. Сезонные изменения в биологии *Leucochloridium paradoxum* (Trematoda, Leucochloridiomorphidae) //Паразитология. 2015. Т. 49. №. 3. С. 200-207.
33. Галактионов К. В., Добровольский А. А. Происхождение и эволюция жизненных циклов трематод. Санкт-Петербург: Наука, 1998.
34. Галактионов К. В., Добровольский А. А., Подвязная И. М. 2014. Эволюция морфофункциональной организации партеногенетических поколений трематод. ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ, 2014, том 93, № 3, с. 426–442.
35. Гинецинская Т. А. Трематоды, их жизненные циклы, биология и эволюция. Ленинград: Наука, 1968.
36. Гинецинская Т. А., Добровольский А. А. и Машанский В. Ф. 1965. Об ультраструктуре тканей партенит и личинок трематод. Материалы научной конференции ВОГ, ч. I, М.: 49-54.

37. Гинецинская Т. А., Машанский В. Ф., Добровольский А. А. 1966. Ультраструктура покровов и способ питания редий и спороцист (Trematodes). Доклад АН СССР, 166, 4: 249-250.
38. Добровольский А. А., Галактионов К. В., Мухамедов Г. К., Синха Б. К., Тихомиров И. А. Партеногенетические поколения трематод. Издательство Ленинградского университета, 1983, под редакцией Т. А. Гинецинской.
39. Иванов, А. В., Полянский Ю. И., Стрелков А. А. 1981. Большой практикум по зоологии беспозвоночных. Издание третье, переработанное и дополненное. Том 1. Москва: Высшая школа, 504 с.
40. Котикова Е. А. Сравнительно-анатомическое исследование нервного аппарата плоских червей (Plathelminthes) //Автореф. канд. дис. Л. – 1971.
41. Кремнев Г. А., Щенков С. В. 2016. Строение эндоцисты партенит трематод (Trematoda: Digenea). Современные проблемы теоретической и морской паразитологии: сборник научных статей (ред.: К. В. Галактионов, А. В. Гаевская). Севастополь: издатель Бондаренко Н. Ю., 178-179.
42. Начева Л. В., Соболева Т. Н., Осиповская Л. Л. 1981. Сравнительная гистология спороцист *Leucochloridium paradoxum* и *L. problematicum*. Паразиты — компоненты водных и наземных биоценозов Казахстана. Алма-Ата: Наука. 147—155.
43. Подвязная И. М., 2016. Особенности строения и развития полости тела у спороцист и редий трематод. Современные проблемы эволюционной морфологии животных: материалы III Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблем эволюционной морфологии животных» к 110-летию со дня рождения академика А. В. Иванова (26–28 сентября 2016 г.). СПб: ЗИН РАН. 2016. 96-97.
44. Соболева Т. Н. Цикл развития *Hasstilesia ochotonaе* Gvosdev, 1962 (Trematoda: Brachylaemidae), паразитирующей у пищух в Тянь-Шане. Паразитология, Т. 6, 1972.
45. Тихомиров И. А. Жизненный цикл *Philophthalmus rhionica* sp. nov. (Trematoda: Philophthalmidae) : дис. – Л., 1980. 20 с.
46. Щенков С. В., Кремнев Г. А., Смирнов П. А., Смирнова А. Д., Дюмина А. В. Эволюция жизненных циклов представителей таксона Brachylaimida (Trematoda: Digenea). Программа и материалы Научной конференции «Биоразнообразие и эволюция», посвящённой памяти академика О. Г. Кусакина, 2016 г., Владивосток.